

**Papaverin und Eupaverin in Blutplasma
nach Verabreichung in verschiedenen
galenischen Zubereitungen**

Richard Schiffman

1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der I. Medizinischen Klinik der Universität München

Direktor: Professor Dr. med. H. Schwiegk

Papaverin und Eupaverin in Blutplasma

nach Verabreichung in verschiedenen

galenischen Zubereitungen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

RICHARD SCHIFMAN

aus New York/USA

München 1975

Berichterstatter: Professor Dr. med. H. J. K a r l

Mitberichterstatter: Professor Dr. med. H. S c h w i e g k

Dekan: Professor Dr. med. W. S p a n n

Tag der mündlichen Prüfung: 1. Juli 1975



Meinen Eltern und Hildegard Berndt-Schifman

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
2. Die Geschichte und Struktur von Papaverin und Eupaverin	5
2.1 Die Toxikologie des Papaverins und Eupaverins	6
2.2 Die wirksamen Blutspiegelkonzentrationen der Substanzen	7
2.3 Der pharmakologische Wirkungsmechanismus	8
2.4 Die Verträglichkeit der Substanzen	9
3. Allgemeine Diskussion über Prolonged Releasing Pharmaceuticals	10
3.1 Die Vor- und Nachteile eines Retardpräparates	10
3.2 Kriterien für ein langwirkendes Präparat	12
3.3 Die Bedeutung eines biopharmazeutischen Profils für die Anwendung und Ausnutzung eines Präparates	14
3.4 Eine kurze Diskussion zu einem Profil in Bezug auf langwirkende Präparate	16
4. Die Substanzen und ihre Wirkungsmechanismen	20
4.1 Versuchstiere	21
4.2 Verabreichung von Präparaten und Gewinnung von Untersuchungsmaterial	21
4.3 Versuchsordnung	22
4.4 Methode zur Bestimmung von Papaverin und Eupaverin	24
I für Vorversuche mit leerem Hundeplasma	24
II aus experimentellem Hundeplasma	25
III aus Humanplasma	26
IV aus Hundekot	27

	Seite
4.5	Eichkurvenherstellung 28
4.6	Gas-Liquid-Chromatographie 34
4.7	Diskussion zur Meßmethode 35
	I zur Reaktionschemie 35
	II zur gasliquidchromatorgr. Bestimmung 36
	III zum Material 38
4.8	Berechnung von Darstellungsmethoden der Ergebnisse 39
	I p-Werte 39
	II Resorptionsquoten der Blutspiegelkurven 40
	III Statistik 43
5.	Ergebnisse der Tierversuche 44
5.1	Verlauf der Blutspiegelkurven von Hunden 65
5.2	Resorptionsquoten und Substanzfreisetzungsvermögen der versch. galen. Zubereitungen 69
5.3	Diskussion der Tierversuche 70
6.	Humanversuche 81
6.1	Probanden und Substanzen 81
6.2	Versuchsbedingungen 81
6.3	Ergebnisse der Humanversuche 82
6.4	Verlauf der normierten Blutspiegelkurven 82
6.5	Diskussion der Humanversuche 87
7.	Zusammenfassung 89
8.	Literaturangaben 93

1. Einleitung

Papaverin und sein Derivat Eupaverin sind in ihrer spasmolytischen Wirkung sehr ähnlich. Die breite therapeutische Anwendung der Substanzen zur Behandlung von peripheren Gehirn- und Myokard-Durchblutungsstörungen sowie Darm-, Bronchial-, Gallen-, Blasen- und Harnleiterspasmus haben in der letzten Zeit an Interesse zugenommen. Besonderes Interesse wird im vasculären und geriatrischen Bereich wegen ihrer Wirksamkeit in der Behandlung von chronischem Hirnsyndrom, cerebraler und peripherer Arteriosklerose, allgemeiner Gedächtnisstörung und psychisch-nervösen Störungen gezeigt (6,35,38).

Die Frage liegt nahe, ob ein solches Präparat in anderen Zubereitungen Vorteile für die Patienten und die Klinik erbringen könnte. Es ist ein wichtiges Ziel von Seiten der behandelnden Ärzte und der pharmazeutischen Industrie, daß stark wirkende Medikamente zur Verfügung gestellt werden, deren Potenz man effektiv und erfolgreich ausnutzen kann, ohne von den Nebenwirkungen erheblich eingeschränkt zu werden. Ob eine Substanz optimal therapeutisch angewandt wird, ist jetzt und wird in der Zukunft eine Frage von immer größerer Bedeutung. Dieses Ziel wird von den Ärzten nur durch bessere Kenntnisse der Pharmakologie und der Pharmakokinetik eines Pharmakons zu erreichen sein.

Kürzlich sind verschiedene retardierende Formen von Papaverin und Eupaverin entwickelt worden. Pavabid (Marion Lab.) und Panergon (Mack) sind zwei schon im Handel befindliche Papaverin-Retardpräparate in Pellet-(Mikrokugel)-Form. Von Eupaverin (Merck) sind 3 langwirkende Zubereitungen im Versuchsstadium. Die vorgelegte Arbeit vergleicht anhand von Substanz-Blutspiegeln in Beagle-Hunden und Menschen diese 5 retardierenden

Formen miteinander und zu den konventionellen peroralen und intravenösen Herstellungen.

Im Lauf dieser Arbeit wurden die folgenden Fragen gestellt:

1. Wie kann man die langwirkenden Zubereitungen von Papaverin bzw. Eupaverin sinnvoll überprüfen?
2. Welche Zubereitungen erzeugen einen echten Prolongierungseffekt?
3. Welche Zubereitungen erweisen eine nützliche biologische Verfügbarkeit?
4. Welche Zubereitungen in Hinsicht auf ihr biopharmazeutisches Profil mögen Vorteile für die klinische Anwendung haben?

Zuerst werden in einem literarischen Teil die Substanzen, ihre klinische Pharmakologie, eine Diskussion über Prolonged Releasing Drugs und die Wichtigkeit einer biopharmazeutischen Beurteilung dargestellt. Danach werden die Versuche und Ergebnisse präsentiert und diskutiert.

L I T E R A R I S C H E R T E I L

2. Die Geschichte und Strukturen von Papaverin und Eupaverin

Papaverin

Im Jahre 1848 wurde das Alkaloid Papaverin aus dem Saft der Mohnkapsel (Papaver Somniferum) extrahiert. Die völlige Aufklärung der chemischen Struktur erfolgte in den Jahren 1883-89. Das Ergebnis ist bezeichnet als 1-(3,4)-Dimethoxy-benzyl-6,7-dimethoxy-isochinolin mit der Summenformel $C_{20}H_{21}NO_4$ (s. Abb. 1).

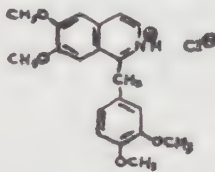


Abb. 1: Formel von Papaverinhydrochlorid

Anschließend wurde durch schwierige Synthese die Formel bestätigt. Dabei entdeckte man sämtliche synthetischen Derivate, die sich erst weder in der Wirkung noch in der Leichtigkeit der Synthese vergleichbar mit Papaverin zeigten. Als Folge blieb man bei der Aufarbeitung von Opium als die einzige Quelle für Papaverin. Dies war völlig ausreichend, da man bis 1899 keine direkte Anwendung des Papaverins als Heilmittel gefunden hatte. Als Pal (26,27,28,29) durch eine Reihe von Arbeiten den spasmolytischen Effekt des Papaverins bekannt gemacht hatte, wurde der Wert dieser Substanz erst wahrgenommen. Sofort wurde es eines der wichtigsten Mittel zur Bekämpfung von Koliken. Zu dieser Zeit wurde wegen neuer Gesetze gegen Rauschgift die Menge an Opium und damit Papaverin (0,8% des Opiumsaftes) beschränkt. Dieses Problem führte zur Entdeckung des Eupaverins, eines vollsynthetischen Präparates mit ähnlicher Wirkung und weniger Giftigkeit als Papaverin.

Eupaverin

Eupaverin wurde erst als 1-(3,4)-Methyldioxy-benzyl-3-methyl-6,7-methylenedioxy-isochinolin eingeführt, aber nach kurzer Zeit wurde es wegen der Synthese-Erleichterung als 3-Äthyl-1-benzyl-6,7-dimethoxy-isochinolin (vergl. Abb.2) hergestellt. Die letztgenannte Substanz mit der Summenformel $C_{20}H_{21}O_2N \cdot HCl$ wird hier diskutiert.

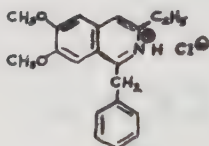


Abb. 2: Formel von Eupaverinhydrochlorid

Beide Substanzen sind schwer wasserlösliche Basen, die aber gut in Benzol, Chloroform und Methanol löslich sind. Sie bilden weiße, schwach-gelbliche Kristalle, die leicht mit Methanol auszukristallisieren sind. Schmelzpunkte sind $214^{\circ}C$ für Eupaverin $224^{\circ}C$ für Papaverin.

2.1. Die Toxikologie des Papaverins und Eupaverins

Die pharmakologischen Untersuchungen an Papaverin und Eupaverin von Wolfes und Kreitmair (46) zeigen, daß Eupaverin eine etwa 4- bis 5-mal größere therapeutische Breite als Papaverin hat. Es tritt die gleiche Wirkung von Papaverin bei Eupaverin mit der Hälfte der Dosis auf und die letale Dosis von Eupaverin ist etwa doppelt so hoch wie die des Papaverins, gleichgültig ob es intravenös, subkutan oder peroral gegeben wird.

2.2. Eine wirksame Blutspiegelkonzentration

Weitere Ergebnisse von Wolfes und Kreitmair ergeben Indizien für eine wirksame Blutspiegelkonzentration von jeder Substanz. Kreitmair beobachtete am isolierten Kaninchendünndarm bei einer Eupaverinmenge von 0,4 $\mu\text{g/kg}$ eine effektive spasmolytische Wirkung. Das heißt, daß ein Eupaverin-Blutspiegel von 400 picogramm/gramm Gewebe wirksam ist. Der gleiche Effekt mit Papaverin benötigt etwa die doppelte Dosis, nämlich 0,8 bis 1,0 $\mu\text{g/kg}$. Dies wurde weiterhin in Versuchen mit einem durch Bariumchlorid zur Kontraktion gebrachten Kaninchendünndarm bestätigt. Die erste Entspannung der Muskulatur wurde bei 2 ng/kg Eupaverin und 4 ng/kg Papaverin beobachtet (46). Die Wirkung der Substanzen ist vermutlich auch in therapeutischem Bereich dosisabhängig (22).

Shenkin (34) beobachtete an 4 Menschen nach intravenöser Gabe von 0,06 g Papaverinhydrochlorid eine 22%ige Reduktion in cerebrovascularem Widerstand mit minimaler Blutdruck-Schwankung. Dieses entspricht bei 100% Verteilung einer Konzentration von 0,86 mg/kg. Miyazaki (24) zeigte in vivo, daß das Papaverin in intravenösen Dosen von 10 mg Carotidendurchblutung deutlich erhöht, was einer Konzentration von 150 $\mu\text{g/kg}$ entspricht bei einer 100% gleichmäßigen Verteilung im Körper eines 70 kg schweren Menschen. Bei diesem Blutspiegel wird die Durchblutung stärker als durch eine 150 mg Pavabid Retardtablette. Trotzdem zeigten LaBrecque (16) und Dunlap (6), daß eine Pavabid Retardkapsel im Menschen eine meßbare Gefäßdilatation und Durchblutungssteigerung erzeugt.

Obwohl noch keine genaue humanwirksame Konzentration für Papaverin und Eupaverin bisher ermittelt wurde, sind die Ergebnisse von Kreitmair an Tieren wahrscheinlich übertragbar, wobei ein spasmolytischer Effekt bei Eupaverin mit 400 pg/g Gewebe und vermutlich bei Papaverin mit 1 ng/g Gewebe am Menschen zu beobachten ist.

2.3. Pharmakologischer Wirkungsmechanismus

1899 stellte Pal (26) fest, daß Papaverin bei direkter Applikation auf die glatte Muskulatur, sei es Gefäß-, Darm-, oder Uterusmuskulatur, eine entspannende Wirkung erzeugt, und zwar wirkt Papaverin primär auf die Fibrillen der Muskelzellen in einer kinetischen Funktionsherabsetzung.

1930 bestätigt er das gleiche für Eupaverin (28). Diese Erklärung galt bis 1968, als Ferrari u. Carpenedo (4,7) entdeckten, daß Eupaverin und Papaverin eine antagonistische Wirkung zu Calciumionenaktivität an glatter Muskulatur erzeugen und Eupaverin eine um den Faktor 10 stärkere Calcium-Bindungskapazität als Papaverin aufweist. Die Autoren geben diesen Effekt als pharmakologischen Grund für die spasmolytische Wirkung an.

Vor kurzem zeigten Poech (30), Triner et al. (40) und Markwardt (21, 22), daß Eupaverin und Papaverin die Aktivität von cyclic 3-5'-nucleotidphosphodiesterase (PDE) hemmen, und zwar dosisabhängig.

Das Enzym PDE ist verantwortlich für die Hydrolyse von cyclic 3-5' AMP zu Adenosin-5-monophosphat. Die Anhäufung von cyclic 3-5'AMP führt zur Abnahme des Muskeltonus und der Muskelkontraktilität. Diese Ergebnisse wurden in der glatten Muskulatur am Gefäß und Uterus (40), in Thrombozyten (21,22), im Myocard und Coronargefäß (14) und im Gehirn (25) festgestellt.

Es ist bewiesen, daß die Wirkung vom jeweiligen vorherrschenden Sympathiko/Parasympathikotonus unabhängig ist und trotz der entspannenden Wirkung keine Lähmungen hervorgerufen werden. Daher sind beide Präparate besonders geeignet bei erhöhtem Muskeltonus, Koliken und Gefäßspasmen (29,46).

Die PDE-Aktivitätshemmung des Eupaverins stellte sich etwas höher heraus als die des Papaverins (22). Infolge-

dessen könnte man postulieren, daß wegen der stärkeren Calcium-Inhibition und der stärkeren PDE-Hemmung Eupaverin einen höheren spasmolytischen Effekt erzeugen kann als Papaverin bei gleicher Dosis.

2.4. Verträglichkeit

Die Verträglichkeit der Substanzen ist gut, mit einzelnen Ausnahmen wie Nausea, Obstipation, Vertigo, abdominalen Beschwerden und Benommenheit. Die Häufigkeit der Nebenwirkungen weicht nicht weit vom Placebo ab und es ist deswegen nicht erforderlich, die Therapie zu unterbrechen (37,38). Bei intravenöser Verabreichung muß langsam injiziert werden, weil die chininartige Wirkung negative Dromotropie, eine Verlängerung der Refraktärperiode und eventuelle Arrhythmien am Herzen auslösen kann (15).

3. Allgemeine Diskussion über Prolonged Releasing Pharmaceuticals

In den letzten Jahren sind ungefähr neun Modelle von verzögerter Medikamentabgabe entwickelt worden, deren Wirkungsmechanismen zum Teil erforscht sind. Aber es hat sich gezeigt, daß es nur durch experimentelle Erprobung möglich ist, die effektivste Zubereitung für jenes in Frage kommende Mittel herzustellen (32). Man fragt sich, welche Vorteile ein langwirkendes Präparat der konventionellen Zubereitung gegenüber anbieten kann und wie man objektiv eine prolonged releasing Droge überprüfen kann.

3.1. Vorteile und Nachteile eines langwirkenden Präparates

Die Vorteile sind gemeinsam für die Patienten und Ärzte.

1. Solche Präparate werden weniger oft verabreicht, was für den Patienten eine geringere Belastung bedeutet. Zusätzlich wird trotz der wenigen Einnahmen ein wirksamer Arzneimittelpegel sicher erreicht und konstant erhalten.
2. Das Vorkommen und die Intensität der Nebenwirkungen wegen häufiger hoher Dosierung entfällt. Wegen der langsamen Abgabe können Irritationen der Darmschleimhaut vermieden werden, die durch hohe Dosen auftreten.
3. Durch einen konstanten Spiegel im Blut und Gewebe wird eine uniforme biologische Response ermöglicht. Anders als eine Tablette kann ein langwirkendes Präparat tiefere Compartmente langsam nach dem Frick'schen Prinzip der Diffusion auffüllen und dadurch für eine bessere Rezeptorsättigung und Depot-Wirkung bürden.

Die Nachteile eines Retardpräparates sind eine Problematik für Ärzte und die pharmazeutische Industrie.

1. Diese Präparate sind in der Herstellung teurer als konventionelle Tabletten, Dragees oder Kapseln. Wie erwähnt, muß man mehrere Zubereitungen erproben, um ein effektives Modell herauszufinden. Verschiedene Hilfsstoffe und Modelle können gravierende Unterschiede in den Ergebnissen hervorrufen. Damit sind prolonged releasing Drogen teurer in ihrer Anschaffung. Zusätzlich sind sie in der Herstellung teurer, da die Qualitätskontrollen komplizierter und die Kosten für die Materialien höher sind.
2. Eine abrupte Beendigung der Therapie ist unmöglich, weil man länger als bei normalen Tabletten warten muß, bis sie eliminiert werden. Das kann bei toxischen Substanzen gefährlich sein, da nicht nur mit der Zeit mehr Substanz freigegeben wird, sondern wie gesagt auch die tieferen Compartmente oft außergewöhnlich gesättigt werden.
3. Eine Teildosierung eines langwirkenden Präparates ist momentan unmöglich, weil wegen der Herstellungsmethode nur durch die Applikation von ganzen Kapseln oder Tabletten die erwartete therapeutische Wirkung versichert wird.
4. Ein inertes Problem bei bestimmten Patienten mit schneller bzw. langsamer Elimination ist die Gefahr einer Unterdosierung oder Kumulation. Man muß daher erst klären, ob eine Substanz in verzögerter Zubereitung unter solchen Umständen den Patienten gefährden könnte.

Als gute Beispiele wären Dicomerol und Digitoxin zu nennen, bei denen die Wirkung und der toxische Spiegel

so nivilliert sind, daß die therapeutische Breite leicht unter- oder überschritten werden kann. In solchen Fällen müßte man sicher sein, daß die Substanzen für das bestimmte Individuum angepasst werden. Wenn eine Einstellung schon erfolgt ist, wäre es möglich, Retardformen zu verabreichen anstatt konventioneller Tabletten, um die Sättigung aufrechtzuerhalten (19).

Heute ist in solchen Fällen der Einsatzbereich eines langwirkenden Präparates noch zu beschränkt. Aber durch die Kenntnisse des pharmakokinetischen Profils eines Präparates und dessen besserem Herstellungsvermögen könnte man bei bestimmten Patienten eine vorhersehende Wirkung hervorrufen und damit das Problem lösen.

Im Falle von Papaverin und Eupaverin wäre eine langwirkende Zubereitung nur vorteilhaft, weil die Substanzen wenig toxisch sind und nicht kumulieren (1). Es ist aber eine Frage, wie man solche Zubereitungen überprüfen kann.

3.2. Kriterien für ein langwirkendes Präparat

Levy (17), Ritschel (32) und Wagner (42) haben die Kriterien für eine gute langwirkende Zubereitung in extenso diskutiert. Hier werden nur 8 Punkte angegeben, die bei der Beurteilung von Papaverin- und Eupaverin-Zubereitungen zutreffend sind und die man sich als Konzept für den experimentellen Teil vor Augen halten sollte. Die Punkte werden in der Diskussion der Ergebnisse weiter behandelt.

1. Was für ein Blutspiegel wird im Vergleich zu normalen Tabletten erreicht?

Bei Medikamenten, die nur an bestimmten Darmabschnitten wegen des pH oder der Enzyme resorbiert werden, wäre eine Retardform nützlich. Da die Verweilzeit in diesem Teil zu kurz wäre, um eine ausreichende Substanzabgabe bzw. Resorption zu gewährleisten. Auch wäre eine Substanz mit langer Halbwertszeit und guter Resorption als normale Tablette ausrechenbar und würde als Retardform keine Vorteile bieten.

2. Wie schnell wird ein wirksamer Blutspiegel erzeugt?

Ein langwirkendes Präparat sollte genauso schnell wirken wie ein normales Präparat.

3. Wie konstant sind die Blutspiegel in gleichem und verschiedenen Objekten?

Obwohl eine biologische Streuung immer vorhanden ist, muß man sicher gehen, daß eine langwirkende Form die Streuung nicht erweitert. Dieses kann man oft mit Hilfe von verschiedenen Zubereitungen und Hilfsstoffen vermeiden.

4. Wie viel weniger wird ein verzögertes Präparat als ein normales Präparat gegeben?

Dieses muß man nach dem Grad der Reduktion der Verabreichung beurteilen. Wenn man mit einer einmaligen Verabreichung etwas für eine Zeit von 4 bis 5 Stunden erreichen kann, was man sonst nur durch stündliche Einnahme bewirken könnte, ist das vorteilhaft.

5. Wie ist die biologische Verfügbarkeit des Medikamentes?

Bei prolonged releasing Pharmaka sollte die Verfügbarkeit genauso sein, wie bei einer äquivalenten Dosis normaler Tabletten.

6. Wird das Medikament akkumuliert?

Wenn bei langsamer Ausscheidung, falscher Herstellung oder einfach zu hoher Dosierung eine Kumulation auftritt, müssen die Ursachen geklärt werden.

7. Sind die Verminderung in pharmakologischer Aktivität und Ausscheidung direkt gekoppelt?

Es ist möglich, daß die Intensität der Wirkung länger anhält, als die Substanz im Körper vorhanden ist; entweder durch Rezeptorreiz oder durch Metaboliten. In solchen Fällen wären prolonged releasing Formen unnötig oder unerwünscht.

8. Ist die Dosis für einen Retardeffekt zumutbar?

Ein Präparat mit einer extrem kurzen Halbwertszeit wäre auf den ersten Blick als Retardform wünschenswert. Dies ist aber oft schwer zu verwirklichen. Ein Beispiel ist Acetylsalicylsäure mit einer Halbwertszeit von 0,5 Stunden. Um ein Präparat mit einer 12-Std.-Wirkung zu erzeugen, das vergleichbar zu der konventionellen 65 mg-Tablette wäre, müßte man eine Dosis von 1728 mg verabreichen.

3.3. Die Bedeutung eines biopharmazeutischen Profils für die Anwendung und Ausnutzung eines Präparates

Nach der Theorie des pharmakologischen Rezeptors ist die biologische Antwort abhängig von der Belegung der Rezeptoren. Nur durch Betreten der Biophase kann eine Substanz anfangen effektiv zu sein (als Biophase ist der Ort gemeint, in dem sich die Rezeptoren befinden). Um diese Belegung der Biophase beurteilen zu können, müßte man theoretisch am Ort eine empfindliche Meßmethode entwickeln, die leider selten durchzuführen ist. Dafür muß man Systeme wählen, die mit der Biophase gekoppelt und meßbar sind. Solche Systeme sind Blut, Galle, Urin und Kot. Sucht man sich ein System aus- z.B. Blut - und betrachtet man für dieses System den pharmakokinetischen Ablauf einer Substanz, wie in Abb. 3 angegeben, kann man mehrere Schlüsse über das Medium, die Substanz und ihren Zusammenhang ziehen:

1. Die Blutspiegelkonzentration und Biophasenkonzentration müssen nicht gleich sein, da $K_{a2} \neq K_{a3}$ sein muß, aber ein Verhältnis zueinander aufweisen. Daher muß nicht ein Maximum des Blutspiegels auch das Maximum der biologischen Response sein und wiederholte hohe Dosierung nicht immer eine lineare biologische Antwort fordern.

2. Die biologische Halbwertszeit errechnet vom Blut (Galle, Urin bzw. Kot) muß nicht gleich der Halbwertszeit der biologischen Antwort sein, da $K_{e1} \neq K_{e2} \neq K_{e3}$.
3. Der Eintritt einer Substanz in den Darm und die daraufhin folgende Verteilung kann leicht bei Änderungen in K_d und K_L kontrolliert werden. Das erfolgt durch Manipulation von Granulat Korngröße, Kompressionsdruck, Arzneistoffpartikelgröße und Hilfsstoffen (Fetten, Seifen, Wachsen, Makromolekülen, Ionenaustauschharzen, Epoxyharzen u.ä.) (9,10,18,32).

Die drei Punkte zeigen, wie, wann und wo nach Verabreichung ein Pharmakon wirksam wird. Da verschiedene Menschen anderes in Magnitude reagieren, ist das Muster der Konstanten für Absorption, Verteilung, Metabolismus und Elimination.



Abb. 3: Schematische Darstellung der Resorption, Verteilung und Ausscheidung einer Substanz nach peroraler Verabreichung.

K_L = Lösungsgeschwindigkeitskonstante

K_d = Zerfallsgeschwindigkeitskonstante

K_{a1}, K_{a2}, K_{a3} = Resorptionsgeschwindigkeitskonstante zwischen Compartmenten

$K_{e0}, K_{e1}, K_{e2}, K_{e3}$ = Eliminationskonstante
(weitere Erklärung s. Text)

wichtig zu wissen, um eine Abweichung in der normalen biologischen Antwort eines Pharmakons abzuschätzen.

Hätte man ein solches Profil angefertigt, könnte man den Patienten in Gruppen von Enzymeffizienz, abnormalem Metabolismus und operativem Fett-Magerverhältnis für die biologische Antwort eines Präparates einteilen. Nach einem Kollektiv könnte man sogar die renale, hepatische und biliäre Funktionstüchtigkeit für die Ausscheidung, Gewebsbildung und Verfügbarkeit des Medikamentes in Abhängigkeit der Dosisform und der gastrointestinalen Resorptionskapazität des Individuums abschätzen. Danach könnte man mit Hilfe des Profils von der Absorption, der Distribution, dem Metabolismus und der Elimination die in situ hepatischen, renalen und hämodynamischen Funktionen des Patienten kontrollieren (9).

3.4. Kurze Diskussion zum Profil in Bezug auf langwirkende Präparate

Wenn man Abb. 3 jetzt in Hinsicht auf ein langwirkendes Präparat betrachtet, kann man folgendes sagen:

1. Die Biophase ist praktisch unmöglich zu kontrollieren, aber sie steht in direktem Zusammenhang mit der Blutspiegelkonzentration, da die Substanz aus dem Blut ins Gewebe unter Gleichgewichtsbedingungen einströmt. Deswegen sind das Vorkommen, die Konzentration und die Verweildauer im Blut ein relatives Maß für die echte Biophasenkonzentration, also ein Maß für die Bioverfügbarkeit. Durch Betrachtung einer Wirkung zur Dosis-Blutspiegelkurve kann man errechnen, inwiefern die Blutkonzentration mit der Biophase in Verbindung steht.
2. Da die Blutkonzentration nicht gleich ein Zeichen für die Gewebs- bzw. Kompartmentsättigung ist, mag eine Tablette einen höheren Blutspiegel haben als eine Retardform, aber die Gewebssättigung von tieferen Kompartimenten - z.B. Fett, Leber und Knochen - bei

der Retardform sicher höher werden als bei der Tablette, weil die biologische Verfügbarkeit einer verlängerten Freigabe der Substanz für die Verteilung und die darauffolgende Wirkung höher ist.

In Hinblick auf diese Überlegungen wurde ein experimenteller Versuch aufgestellt, um die Blutspiegelkonzentrationen, die biologische Verfügbarkeit und den Retardeffekt von 2 Papaverin Retardformen und 4 Eupaverin Retardformen gegenüber konventionellen Tabletten und intravenösen Verabreichungen der Substanzen zu überprüfen. In dem folgenden experimentellen Teil dieser Arbeit werden die Methodik und die Ergebnisse von Tierexperimenten dargestellt und diskutiert. Daraufhin folgt die Erläuterung eines Humanversuchsstudiums mit einer Retardform jeder Substanz, normalen Eupaverintabletten und einer intravenösen Verabreichung von Eupaverin. Die Ergebnisse werden in Hinsicht auf die schon dargelegten Überlegungen diskutiert.

E X P E R I M E N T E L L E R T E I L

4. Substanzen und ihre galenischen Wirkungsmechanismen

Für die Blutspiegeluntersuchungen wurden die folgenden Präparate genommen:

Pavabid (Marion Lab.) und Panergon (Mack) - beides im Handel befindliche Präparate des Papaverins. Jede Zubereitung enthält eine Dosis von 150 mg Papaverinhydrochlorid in Pelletform.

Papaverin wird in hunderte von kleinen Resinmembrankügelchen eingeteilt, deren Membranen alle gleich dick sind. Dieses erlaubt durch Diffusion der gastrointestinalen Flüssigkeit, daß ein dynamisches Äquilibrium hergestellt wird, in dem der Zustrom der Flüssigkeit die Substanz auflöst und bei dem Abstrom aus der Zelle eine konstante Abgabe der Substanz gewährleistet wird. Die Freigabe der Substanz in den Darm ist abhängig von der Flüssigkeit und der Permeabilität der Membranen aber nicht von pH-Änderungen. Je mehr die Substanzkonzentration in dem Kügelchen abnimmt, desto permeabler wird die Membran (20). Die Pavabidkapseln wurden von Marion Lab. Inc. und das Panergon von der Firma Mack zur Verfügung gestellt.

Eine selbst hergestellte Kapsel von reinem Papaverinhydrochlorid und eine im Handel befindliche 0,04 g/ml Papaverin-Ampulle wurden für perorale und intravenöse Applikation verwendet.

Das Eupaverin war als 100 mg Retardform in zwei verschiedenen galenischen Zubereitungen vorhanden, einmal als Eupaverin Retardform mit Versuchsnummern 49/71 und 3/72 und als zwei Pelletformen - das Eupaverin 3/73 (alle drei Formen von Fa. E. Merck) und das Eupaverin NYSCAP (Nysco Lab. Inc.).

Es handelt sich bei den ersten zwei Formen um langwirkende Tabletten beruhend auf dem Einbettungsprinzip. Das Eupaverinhydrochlorid wird in ein Galaktomannangummi eingepreßt und im Falle des Eupaverin (Eu) 3/72 mit 20% CAP und im Falle des Eu 49/71 mit 0,5% CAP (Cellulose-Acetat-Phosphat) lackiert (47). Eine Initial-

dosisschicht befindet sich um das lackierte Zentrum. Der Wirkungsmechanismus erfolgt durch sofortige Abgabe der Initialschicht, die einen schnellen wirksamen Spiegel erzeugt. Dann wird durch das CAP enteric coating eine Hinderung der weiteren Auflösung für 15-30 Minuten gesichert und nach der Magenpassage erfolgt im Duodenumbereich die langsame Freisetzung des Eupaverins durch die Erosion der Galaktomannanschicht. Es wurde Galaktomannan gewählt, weil es die längste Verzögerungswirkung bei Vergleichsversuchen aufwies (31) und die Freisetzung in größerer Menge bei jedem pH und normalen Darmenzymen durch gleichmäßige Hydrolyse des Galaktomannans und Erosion stattfindet (32,47).

Die zwei Pelletformen des Eupaverins entsprechen dem schon dargestellten Papaverin-Pellet-Wirkungsmechanismus.

Zusätzlich wurden 100 mg konventionelle Eupaverin-Tabletten Nr. 1/72, eine 100 mg selbsthergestellte Kapsel aus reiner hydrochlorierter Substanz und eine im Handel befindliche Ampulle zu 0,03 g/ml verwendet.

4.1. Versuchstiere

Für die Versuche standen 5 weibliche Beagle-Hunde aus der Zucht der Firma E. MERCK zur Verfügung. Die Tiere hatten zum Zeitpunkt des Versuches ein durchschnittliches Körpergewicht von 13,0 kg. Während der Versuche wurden die Hunde in einem Stoffwechselkäfig gehalten, sonst sind die Tiere in einem Hundehaus mit freiem Auslauf untergebracht. Das Futter besteht aus einer Volldiät mit "Altromin-H"^R (Altromin GmbH, Lage/Lippe). Wasser wird ständig angeboten.

4.2. Verabreichung des Präparates und Gewinnung von Untersuchungsmaterial

Einen Tag vor Versuchsbeginn wurden die Hunde in einem Stoffwechselkäfig untergebracht, damit sie sich an die Umgebung gewöhnen konnten. Bis zum Versuchsbeginn stand ihnen nur noch Wasser zur Verfügung. Zur Anregung der Magensekretion wurde den Hunden kurz vor der peroralen

Applikation 50 g Trockenfutter mit Wasser vermischt angeboten.

Die intravenösen Injektionen erfolgten in die Vena cephalica und die Blutproben wurden durch Einzelpunktionen der Vena basilica gewonnen. Die Blutentnahmezeiten wurden nach dem folgenden Plan eingehalten.

intravenöse Injektion:	0; 0,12; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; (12); 24 Std.
reine Wirkstoffkapseln:	0; 0,12; 0,5; 1; 2; 4; 8; 12; 24 Std.
Eupaverin Tab. 1/72:	0; 0,5; 1; 2; (3); 4; 5; (6); 8; 12; 24 Std.
Retardformen:	0; 0,5; 1; 2; (3); 4; (6); 8; 12; 24; (32); (48) Std.

(Es wurde bei den in Klammern angegebenen Zeiten nicht jedesmal Blut entnommen).

Während der gesamten Versuchsdauer waren die Hunde in wachem Zustand. Nach jedem Versuchsablauf wurden die Proben analysiert.

4.3 Versuchsordnung

In Tabelle 1 sind die Versuche in Substanzen und Zubereitungen eingeteilt. Jede Zubereitung wurde wenn möglich an dem gleichen Tier und an anderen Tieren mehrmals ausprobiert, um mögliche populationsbedingte und einzelne biologische Streuungen zu beurteilen. Die Versuche wurden auch an verschiedenen Tagen durchgeführt, um mögliche wetterbedingte oder zufallsbedingte Abweichungen auszuschalten.

Tabelle I: Versuchsanordnung und Tiergewichte

	Pap. iv. 60 mg	Pap. rein 100 mg	Pavabid 150 mg	Panergon 150 mg	Eu iv. 60 mg	Eu rein 100 mg	Eu Tab. 1/72	Eu ret. 3/72	Eu ret. 49/71	Eu Pellet	NYSCO Cap
Tier I	22.11.72	23.10.72	16.10.72	23.11.72	21.9.72	17.8.72	28.8.72 20.10.72	6.9.72 14.9.72	31.8.72	---	---
Tier II	11.12.72	---	25.9.72	23.10.72	21.9.72	---	28.8.72 16.10.72	6.9.72 14.9.72	31.8.72 20.10.72	---	---
Tier III	---	22.8.72 23.10.72	25.9.72	22.11.72	3.8.72	---	28.8.72 14.9.72 20.11.72	6.9.72 3.10.72 16.10.72	31.8.72 20.10.72	---	---
Tier IV	---	---	---	---	---	---	---	---	3.9.73	18.9.73 29.8.73	
Tier V	---	---	---	---	---	---	---	---	---	18.9.73 29.8.73	3.9.73

	Alter	Gewicht
Tier I	2,5 J.	14,5 kg
Tier II	2,5 J.	14,5 kg
Tier III	2,2 J.	13,5 kg
Tier IV	1,5 J.	12,1 kg
Tier V	1,5 J.	11,0 kg

4.4. Methode zur Bestimmung von Papaverin und Eupaverin

I. Methode für die Vorversuche mit leerem Hundeplasma

Eupaverin-Stammlösung: 1 mg Eupaverin wurde in 10 ml Äthanol und wenigen Tropfen in H_2O bis zur Trockene eingedampft und in 50 mg H_2O dest. gelöst. Dieses ergab eine Lösung mit $1 \mu g/50 \mu l$.

Papaverin Internal Standard: 2 mg Papaverin wurden in 10 ml Äthanol und wenigen Tropfen in H_2O eingedampft und in 50 ml H_2O dest. gelöst. Dieses ergab eine Lösung von $2 \mu g/50 \mu l$.

Lösungsmittel:

0,1n Natriumlauge

Diisopropyläther-Cyclohexan 10:90

Extraktionsvorgänge:

- A) Zu 1 ml Hundeplasma in einem Sovirelgläschen mit Schraubdeckel wurden 50 μl Eupaverin-Stammlösung = $1 \mu g$ und 50 μl Papaverin-Standard = $2 \mu g$ abpipettiert.
- B) Anschließend wurden 8 ml 0,1n NaOH zugegeben und 5 Min. alkalisiert. Danach wurden 4 ml Diisopropyläther-Cyclohexan 10:90 Lösung zugegeben und 5 - 10 Min. geschüttelt. Nachdem die wäßrige und organische Phase völlig gemischt waren, wurden die Proben bei 4.000 UPM zentrifugiert.
- C) Die Lösungsmittelphase wurde abpipettiert und in einem 15 ml Spitzgläschen mit Hilfe von Stickstoffgas zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde in 25 μl Äthg-

nol aufgelöst und in einem Gas-Liquidchromatograph der Firma Hewlett Packard eine 5 µl Probe analysiert.

Diskussion zur Extraktion aus leerem Hundeplasma

In Vorversuchen wurde beobachtet, daß Cyclohexan allein nicht genug polar war, um die gleiche Menge Eupaverin als Papaverin aus dem Plasma im Vergleich mit Wasser zu extrahieren. Deswegen wurde eine Diisopropyläther-Cyclohexan-Lösung (10:90) gewählt, die eine Wiederfindungsrate von 92% ergab. Nachdem diese organische Phase sich als geeignet herausstellte, wurden die oben geschilderten Vorgänge mit H₂O dest. anstatt mit Plasma durchgeführt, um festzustellen, ob das Verhältnis zwischen Eupaverin und Papaverin aus Wasser- und Plasmaextrakten konstant bleibt. Das Plasmaverhältnis unterschied sich von dem des Wassers um 1,7%. Damit wurde eine zuverlässige Bestimmungsmethode entwickelt, die einen direkten Vergleich zwischen unbekannten experimentellen Substanzplasmawerten und einer Eichkurve aus bekannten wässrigen bzw. äthanolischen Substanzlösungen erlaubte. Weitere Einzelheiten über die Eichkurve sind in Kapitel 4.5 enthalten.

II. Methode zur Bestimmung von Papaverin und Eupaverin aus experimentellem Hundeplasma

Papaverin Internal Standard: 2,5 mg Papaverin wurden in 10 ml ETOH und wenigen Tropfen 1n HCl eingedampft und in 100 ml H₂O dest. gelöst. Dieses ergab eine Lösung von 2,5 µg/100 µl.

Eupaverin Internal Standard: 1,5 mg Eupaverin wurden in 10 ml ETOH und wenigen Tropfen 1n HCl bis zur Trockne eingedampft und in 100 ml H₂O dest. gelöst. Dieses ergab eine Lösung von 1,5 µg/100 µl.

Lösungsmittel:

0,1n Natriumlauge

Diisopropyläther-Cyclohexan 10:90

Extraktionsvorgänge: zur Bestimmung von Eupaverin)

- A) Zu jeder 1 ml Hundeplasmaprobe im Sovirolgläschen wurden 100 μ l Papaverin Internal Standard = 2,5 μ g gegeben.
- B) Zu dem 1 ml Hundeplasma wurden dann 3 ml 0,1n NaOH zugegeben und 5 Min. alkalisiert.
- C) Danach wurden 4 ml Diisopropyläther-Cyclohexan (10:90) Lösung zupipettiert und 5 -10 Min. fest geschüttelt. Anschließend wurden die Proben bei 4.000 UPM 10 Min. zentrifugiert.
- D) Die Lösungsmittelphase wurde abpipettiert und in einem 15 ml Spitzgläschen mit Hilfe von Stickstoffgas zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde in 25 μ l ETOH aufgelöst und ein 5 μ l Aliquot gas-liquidchromatographisch analysiert.

Für die Bestimmung von Pavabid^R, Panergon^R und anderen Applikationsformen von Papaverin wurde die gleiche Methode angewandt, mit Ausnahme des Internal Standards. Anstatt des Papaverins wurde ein Internal Standard aus Eupaverin verwendet.

III. Methode zur Bestimmung von Papaverin und Eupaverin aus Hundeplasma

Die Analyse von Humanproben erfolgte wie oben erläutert, nur mit Ausnahme von den Mengen an Plasma, 0,1n Natriumlauge und Diisopropyläther-Cyclohexan (10:90). Anstatt 1 ml Plasma wurden 5 ml Humanplasma (10 ml natives Venenblut) genommen. Für die Alkalisierung wurden 10 ml 0,1n NaOH zugegeben, und die organische Phase bestand aus 15 ml Diisopropyläther-Cyclohexanlösung. Die Einengung erfolgte

mit Hilfe von Stickstoffgas und die Proben wurden in 2 - 5 μ l Aliquoten der in 25 μ l äthanolischen gelösten Substanzen analysiert. Die Extraktionsvorgänge sind oben in Kapitel 4.4.-II im Detail zu entnehmen.

IV. Methode zur Bestimmung von Papaverin und Eupaverin im Kot

Internal Standards: Reine Papaverin-Base
reine Eupaverin-Base

Lösungsmittel:

1n HCl

H₂O dest.

0,1n Natriumlauge

Diisopropyläther-Cyclohexan 10:90

Um die unresorbierte Menge Eupaverin (Papaverin) zu bestimmen, wurde der Kot von einigen Tieren über 24 Std. nach der Applikation gesammelt und analysiert.

Extraktionsmethode: (für die Bestimmung von Eupaverin)

- A) Eine bekannte Menge Papaverin-Base wurde abgewogen (z.B. 50 mg) und in einem Zweilitergefäß mit 100 ml 1n HCl in die hydrochlorierte Form umgesetzt. Der Kot wurde in 900 ml H₂O dest. geschüttelt und in das Gefäß gegossen. Mit Hilfe eines Ultra-Turrax wurde der Kot 3 bis 5 Min. homogenisiert.
- B) Ein Aliquot wurde entnommen und bei 3.000 UPM zentrifugiert. Davon wurde 1 ml Überstand abpipettiert und in einem Sovirelglas mit 3 ml 0,1n NaOH alkalisch gemacht.
- C) Anschließend wurden 4 ml Diisopropyläther-Cyclohexanlösung zugegeben, 10 Min. fest geschüttelt und bei 4.000 UPM für 10 Min. zentrifugiert.

- D) Die organische Phase wurde abpipettiert und in einem Spitzglas mit Hilfe von Stickstoffgas eingeeengt. Der Rückstand wurde in 50 μ l ETOH aufgenommen und in 2 bis 3 μ l Proben gasliquidchromatographisch analysiert.

4.5. Eichkurvenherstellung

Um experimentelle Proben leicht errechenbar zu machen, wurde eine Eichkurve aus verschiedenen Konzentrationen von Eupaverin und Papaverin hergestellt. Dazu wurden 2 Eupaverin-Stammlösungen und 3 von jeder Stammlösung hergestellte Verdünnungsreihen benötigt. Die Konzentrationen der Stammlösungen und deren Verdünnungsreihen sind der Tabelle 2 zu entnehmen. Die Eichkurvenpunkte wurden folgendermaßen ermittelt:

- A) Von jeder Stammlösung und jeder Verdünnungsreihe wurden 0,5 ml abpipettiert und mit jeweils 0,5 ml Papaverin-Stammlösung gemischt (eine 0,5 ml Menge wurde gewählt, um Pipettierfehler so niedrig wie möglich zu halten).
- B) Für jeden Eichpunkt wurden 5 μ l gaschromatographisch analysiert und das Peakhöhenverhältnis Eupaverin zu Papaverin gemessen. Die Peakverhältnisse wurden auf doppel-logarithmischem Papier aufgetragen, das an der Abscissa in Microgramm Eupaverin und der Ordinate im Peakverhältnis (Eupaverin:Papaverin) verzeichnet wurde, wie in Abbildung 4 dargestellt ist (Linie a).
- C) Für die Bestimmung von experimentellen Mengen des Eupaverins wurde eine wäßrige Lösung mit 2,5 μ g Papaverin in 100 μ l jeder Probe zugesetzt (Herstellung s. Methode 4.4.-III). Damit fand sich eine Papaverinkonzentration von 500 ng in jeder 5 μ l aufgespritzten Probe am Detektor. Da in der Eichkurve die Papaverinmenge am Detektor 250 ng betrug, mußte man die experimentellen Peakhöhenverhältnisse durch einen Eichfak-

tor 2 dividieren, um die Peakverhältnisse von experimentellen Plasmaproben und Eichpunkten auf das gleiche Niveau zu bringen. Oder die Eichlinie muß so parallel verschoben werden, daß bei der abzulesenden Menge Eupaverin, die dem zugesetzten Papaverin-Internalstandard gleich ist (nämlich $2,5 \mu\text{g}/\text{Probe}$), die Peakverhältnishöhe abzulesen wäre, die einer 1:1 Probe: Standard Konzentration entspricht (nämlich 2,898). In diesem Falle müßte bei dem abszissa-Wert $2,5 \mu\text{g Eu}$ der Ordinate Peakverhältnishöhenwert 2,898 zu finden sein.

Der Vorteil der Eichkurve besteht darin, daß bei kleinen Mengen, wo möglicherweise keine genaue Meßlinearität des Gerätes vorhanden ist, richtige Werte erfaßt werden, während die rechnerische Ermittlung vielleicht eine Abweichung enthält.

Das Messen von Papaverinmengen mit Eupaverin Internal Standard erfolgte durch die Überlegung der Peakverhältnisse von Eupaverin- zu Papaverin-Mengen in einer 1:1 Konzentration und von den experimentell ermittelten Ergebnissen. Davon ergibt sich die Formel 1:

$$(1) \text{ Papaverin in } \mu\text{g} = \frac{\text{Eupaverin Standard in } \mu\text{g}}{\text{Peakhöhe}_{\text{Eu}}} \cdot \frac{\text{Peakhöhe}_{\text{PaP}}}{\text{Peakhöhe}_{\text{Eu}}} \cdot (K)$$

wobei $K = 2,898$ oder $2,58$ das Peakverhältnis Eu: Pap bei einer 1:1 Konzentration gemessen in der ersten bzw. zweiten Trennsäule.

Die Bestimmung von Papaverin- bzw. Eupaverinmengen aus Kot erfolgte genauso wie oben geschildert (Formel 1) mit einer

Lösung für Papaverin oder Eupaverin

$$(1') \quad \text{Pap in mg} = (\text{Eu Int. St. in mg}) \times \frac{PH_{\text{Pap}}}{PH_{\text{Eu}}} \cdot (K)$$

$$(1a) \quad \text{Eu in mg} = (\text{Pap Int. St. in mg}) \times \frac{PH_{\text{Eu}}}{PH_{\text{Pap}}} \cdot \left(\frac{1}{K} \right)$$

Beispiele der verschiedenen Analysen sind in Abb. 5 zu betrachten.

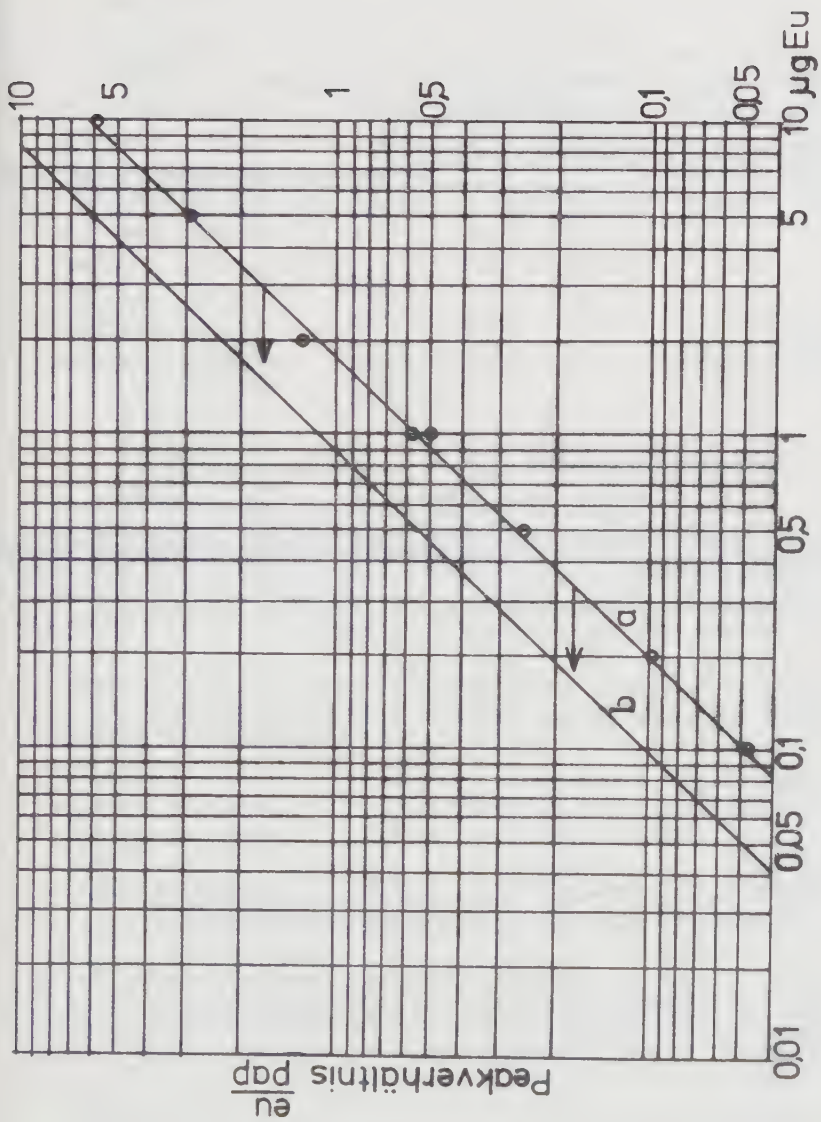


Abb. 4: Eichkurve der Tierversuche, a) Linie mit Eichpunkten, b) Linie korrigiert für Proben

Tabelle 2: Eichkurvenstammlösungen

Eichpunkt	Substanz	Lösungskonzentration	Verdünnung	= µg/ml	Menge am Detector
-	Pap	5mg/50ml ETOH	-	100µg/ml	250ng/5µl
A ₁	Eu	10mg/50ml ETOH	-	200µg/ml	500ng/5µl
A ₂	"	"	1:2	100µg/ml	250ng/5µl
A ₃	"	"	1:5	40µg/ml	100ng/5µl
A ₄	"	"	1:10	20µg/ml	50ng/5µl
B ₁	Eu	1mg/50ml ETOH	-	20µg/ml	50ng/5µl
B ₂	"	"	1:2	10µg/ml	25ng/5µl
B ₃	"	"	1:5	4µg/ml	10ng/5µl
B ₄	"	"	1:10	2µg/ml	5ng/5µl

Die gewonnenen Eichpunkte:

	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	B ₁	B ₂	B ₃	B ₄
Säule I	5,66	2,898	1,280	0,571	0,491	0,248	0,0957	0,0485
Säule II	5,19	2,66	0,980	0,525	0,589	0,302	0,118	0,0644

Die Eichpunkte wurden durch Doppelbestimmungen gesichert.

zu Abb. 5: Auswertung der GL-Chromatogramme von verschiedenen Eupaverin- und Papaverinversuchen.

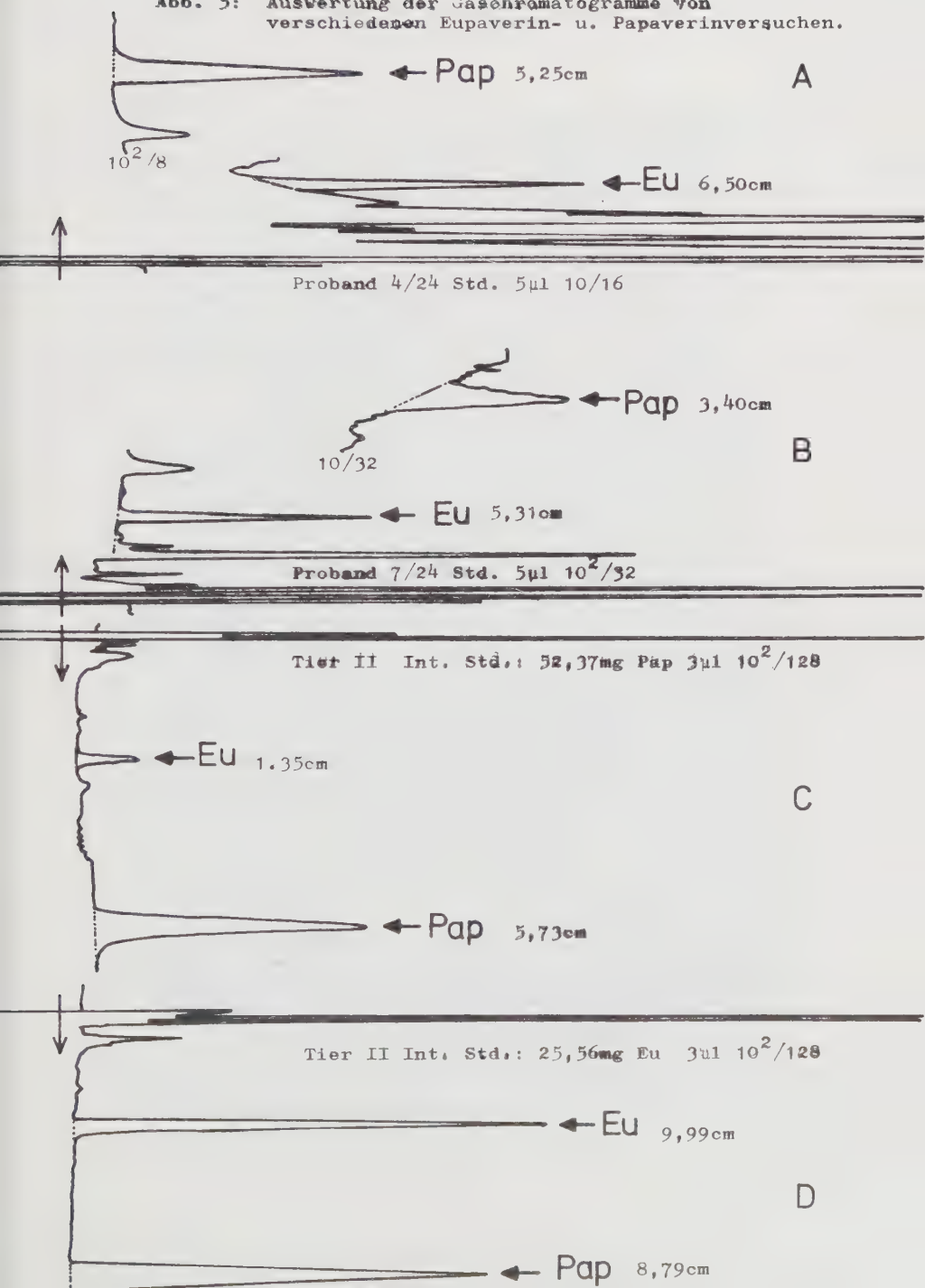
Von der Eichkurve abgelesen

Probe	Probenvolumen	Peakverhältnis der Probe zum Int.Std.	abgelesen: µg/ml	p-Wert
A: Plasma		gesamt		
Eu ret. 49/71	3,2ml	0,0640	0,0193	0,0159

Nach Formel 1 errechnet (s.4.5 Eichkurvenherstellung):

Probe	Probenvolumen	Peakverhältnis	Standard	Säulenfaktor	µg/ml	p-Wert
B: Plasma						
Pavabid ^R	4,9ml	0,0640	Eupaverin 1,50mg	2,58	0,051	1,03
C: Hundekot						
Eu Tab. 1/72	1,0ml	0,236	Papaverin 52,37mg	2,898	4,25mg	-
D: Pavabid ^R	1,0ml	0,229	Eupaverin 25,56mg	2,898	67,95mg	-

Abb. 5: Auswertung der Gaschromatogramme von verschiedenen Eupaverin- u. Papaverinversuchen.



4.6. Gas-Liquid-Chromatographie

Ein Hewlett Packard Research Modell 5705G dual column Gas-Liquidchromatograph mit einem Selective Flame Ionization Detector, einem Nitrogen Detector, einem High Sensitivity Zusatzteil und einem 5705G Stripchart Recorder wurde für die Analyse verwendet. Die Säulen, von denen während der Untersuchungszeit zwei hergestellt wurden, waren 4 ft. lange Glastuben und hatten einen Innendurchmesser von 2 mm. Sie wurden mit einem 100/120 Mesh vorbelegten Chromosorb G (DMCS treated acid washed) der Firma Johns Manville Products gepackt. Die Belegung des Chromosorbs wurde mit einem 2% OV-7 Polysiliconöl (80% Methyl- und 20% Phenol-Seitenketten) durch Abdampfung bei Rühren im 30°C Wasserbad ohne Vakuum vollstreckt. Das feuchte Material wurde in einem Trockenturm bei 60°C mit Stickstoffgas trockengeblasen. Die Säulen wurden an einem Ende mit salinizierter Glaswolle gestopft und unter Vakuum mit dem belegten Chromosorb aufgefüllt. Das andere Ende wurde ebenfalls bei jeder Säule mit salinizierter Glaswolle gestopft und dann wurden die Säulen mit einem Handvibrator so lange bearbeitet, bis keine Risse oder undichten Stellen in der Säule zu beobachten waren. Die Konservierung erfolgte durch Ausheizung bei 300°C mit gleichzeitiger Durchströmung von Stickstoffgas bei 55 ml/min. Geschwindigkeit. Anschließend wurden die Säulen an den Detector angeschlossen.

Für jede Säule wurde eine Eichkurve hergestellt, die für die jeweiligen Untersuchungen benutzt wurden. Während der Untersuchungszeit waren keine Änderungen in der Säulenfunktion zu beobachten.

Die Gasströmungen waren folgendermaßen eingestellt:

Helium (Trärgas)	60ml/min.
Wasserstoff	32ml/min.
Sauerstoff	180-200ml/min.

Die Temperatureinstellungen waren:

Oven	270°C
Injection Port	300°C
Detector	400°C

Die Sensitivity-Einstellungen waren je nachdem:

32,16,8,4/10² bzw. 32,16,8/10 A.

4.7. Diskussion zur Meßmethode

I. Diskussion zur Reaktionschemie

Alle Eupaverin- und Papaverinzubereitungen wurden in einem hydrochlorierten Zustand verabreicht. Die Notwendigkeit dieser Herstellung beruht darauf, daß die natürlichen Basen beinahe wasserunlöslich und schlecht resorbierbar sind. In hydrochlorierter Form war gesichert, daß in dem alkalischen Dünndarmbereich die Substanzen entweder in saurer oder in undissozierter Form vorlagen und deswegen rasch resorbiert werden konnten. Genau diese Eigenschaft der Unlöslichkeit eignete sich zu einem einfachen Extraktionsverfahren. Das im Plasma als Hydrochloridform vorliegende Eupaverin (Papaverin) wurde mit Natriumlauge in die basische Form umgesetzt und so wasserunlöslich gemacht. Mit einer Zugabe von einem starken nonpolaren Lösungsmittel wurde ein Gleichgewicht zu Gunsten der organischen Phase hergestellt. Diese Phase wurde dann durch Einengung konzentriert, wodurch das Eupaverin (Papaverin) in einer meßbaren Form vorlag. Dieses einfache Verfahren zeigte sich als zuverlässig und flexibel, da man bei

jeder Stufe in der Extraktion anhalten und die Proben im KÜhlschrank aufbewahren konnte, ohne daß bemerkbare Oxydationen oder Zersetzungen der Proben beobachtet wurden.

II. Diskussion zur gaschromatographischen Bestimmungsmethode

Für die gaschromatographische Bestimmung von Eupaverin stellte sich Papaverin als Internal Standard gut heraus. Papaverin hat eine ähnliche chemische Struktur und ließ sich daher genauso extrahieren und GL-analysieren. Durch Zugabe von einer bekannten Menge des Papaverins zu jeder Probe konnte das aufgezeichnete Peakhöhenverhältnis der beiden Substanzen gemessen werden, welches durch die Herstellung einer Eichkurve von vorbereiteten Proben ein leichtes genaues ablesen der experimentellen Mengen erlaubte.

Die Bedeutung des Internal Standards besteht darin, daß man nur das Peakhöhenverhältnis der beiden Substanzen wissen muß, um die unbekannte Eupaverinmenge zu ermitteln. Wenn man sich nur auf die linearen Verhältnisse der verschiedenen Eupaverinmengen verlassen würde, wäre durch Gerätestörungen, wie z.B. Gasströmungs- und Temperaturschwankungen oder durch Pipettierfehler, kein reproduzierbares Ergebnis möglich.

Die 2,5 µg in 100 µl Papaverinmenge wurden als Internal Standard aus den folgenden Überlegungen zugezogen:

Wenn ein 14,5 kg Hund eine 100 mg Eupaverinmenge bekommt und die Substanz 100%ig resorbiert und verteilt wird, dann wären 7,89 µg Eupaverin/Gramm Gewebe vorhanden. Findet aber diese 100%ige Resorption und Verteilung nicht statt, sondern werden nur 20% resorbiert, wäre ein Substanzspiegel von 1,58 µg/ml ($7,89 \times 20\%$) zu erwarten. Da experimentelle Ermessungen ergaben, daß eine Eupaverin-Papaverin-Konzentration von 1:1 ein Peakhöhenverhältnis von 2,89 bzw. 2,58 schreiben ließ (abhängig von der benutzten Säule), kann man ausrechnen, daß $1,58 \times 2,898 = 4,49$ µg Papaverin nötig wäre, um eine gleiche Papaverinpeakhöhe wie die des 1,58 µg Eupaverins zu bekommen. Weil nicht

immer eine Eupaverinkonzentration von 1,58 $\mu\text{g/ml}$ vorhanden wäre, wäre wahrscheinlich die Hälfte der ausgerechneten Papaverinmenge ausreichend, um in dem gleichen Meßbereich sowohl die zu erwartenden Eupaverinmengen als auch den Internal Standard messen zu können. Leider zeigte sich, daß die experimentellen Eupaverinkonzentrationen nicht in einem μg -Bereich sondern häufig in einem ng-Bereich lagen. Dadurch war der Standard oft nicht im gleichen Meßniveau und man mußte bei der Bestimmung die Gerätsensitivität umschalten. Die Linearität des Meßverfahrens blieb trotzdem erhalten und erlaubte eine zuverlässige und konstante Bestimmung von mindestens 2 ng Mengen am Detector, ob Eupaverin oder Papaverin. Meßabweichungen von einer Probe bei verschiedenen Sensibilitätseinstellungen machten nicht mehr als 0,5% aus.

Um das Ablesen von experimentellen Ergebnissen zu ermöglichen, wurde eine Eichkurve aus zwei Verdünnungsreihen von bekannten Eupaverin- und Papaverin-Stammlösungen, wie in 4.5. beschrieben ist, hergestellt.

Wie erwähnt, wurden die Papaverinwerte von Formel 1 rechnerisch ermittelt. Da jedoch die Papaverinpeaks GLC langsamer getrennt werden als die Eupaverinpeaks, sind die etwas breiter und abgeflacht. Daraus erfolgt eine mögliche Fehlerquelle, weil die Peakhöhen hier verglichen werden und nicht die Fläche unter jedem Peak. Bei den Eupaverinproben ist der Internal Standard so gewählt, daß die Abflachung der Peaks keine Rolle spielt. Bei den Papaverinproben aber mögen die ermittelten Werte etwas erniedrigt sein, weil die Peakhöhenverhältnisse natürlich die Abflachung nicht widerspiegeln. Bei Proben mit zugesetzten kleinen Mengen von Papaverin mit Eupaverin Internal Standard erschien kein signifikanter Unterschied zwischen gemessenen Werten und tatsächlich zugegebenen Mengen.

Beispiele von den verschiedenen GL-Analysen des Eupaverins mit Papaverin als Internal Standard und umgekehrt sind in Abb. 5 angegeben. Dabei ist zu bemerken, daß die Eupaverin- bzw. Papaverin-Beispiele aus Humanplasma- und aus Hundekot-Bestimmungen stammen.

Kontrollmaßnahmen wie regelmäßig durchgeführte Doppelbestimmungen zeigten, daß die Ergebnisse der Proben nie

mehr als 4% von einander abweichen. Zusätzlich wurden Eichkurvenlösungen vor jeder Meßreihe aufgespritzt, um die momentane Empfindlichkeit des Gerätes zu prüfen. Daraufhin wurde das Gerät solange eingestellt, bis vergleichbare Ergebnisse zu den originalen Eichpunkten gemessen wurden. Auch die Extraktionsmethode erwies sich als sehr zuverlässig, da eine Wiederfindungsrate von 80-95% immer feststellbar war. Infolgedessen waren alle experimentellen Mengen in meßbarem Bereich und die Ergebnisse gut reproduzierbar.

III. Diskussion zum Material

Zur Bestimmung von Eupaverin aus Hundeplasma wurde ein Glasgeschirr gewählt, das erlaubte, alle Extraktionsvorgänge mit so wenig Substanzverlust wie möglich durchzuführen.

Das Zentrifugenglas mit Schraubdeckel Nr. 4611515 von Sovirel eignete sich am Besten für das Reaktionsgefäß, weil es eine Flüssigkeitsmenge von 10 ml behält, wegen des Schraubdeckels kräftig geschüttelt werden darf, gut zentrifugiert werden kann und leicht spülbar ist.

Die Trennung der zwei Flüssigkeitsphasen wurde durch einfaches Abpipettieren ermöglicht. Dadurch wurden nicht alle 4 ml Lösungsmittel für die Bestimmung genommen, weil nicht die ganze organische Phase wegen der Fette und Verunreinigungen in dem unteren Teil der Cyclohexan-Diisopropyl-ätherphase abpipettiert werden konnte.

Trotzdem stellte es sich heraus, daß sogar mit 2 ml der organischen Phase reproduzierbare und vergleichbare Ergebnisse zu den Proben mit allen 4 ml ermittelt werden konnten. Am häufigsten wurde eine Menge von 3,5 ml Lösungsmittel zur Einengung genommen.

Zur Einengung und anschließenden Einlösung in 25 μ l Äthanol eignete sich ein einfaches 15 ml Spitzglas. Nach der Einengung mit Stickstoffgas konnte der Rückstand gut in Äthanol gelöst und in einer 10 μ l Hamiltonspritze

aufgezogen werden. Rundbodenartige Gläser erlauben nur mit Schwierigkeit das Aufziehen der Proben in die Spritze und sind daher nicht empfehlenswert. Die Geschirrkombination stellte sich als hervorragend heraus, da man alle Reaktionsstufen ablaufen lassen konnte, ohne ständig das Glas zu wechseln.

Bei den Humanversuchen wurde wegen der Flüssigkeitsmengen ein 50 ml Spitzkolben für die Extraktion benutzt. Hier erfolgte die Trennung von wäßriger und organischer Phase in 50 ml Zentrifugationsgläsern mit anschließender Abpipettierung. Die Einengung wurde noch in 15 ml Spitzgläsern vorgenommen.

4.8. Berechnung von Darstellungsmethode der Ergebnisse

I. p-Werte

Die direkte Darstellung der Blutspiegelkonzentrationen erfolgt nur in den Tabellen. Zusätzlich werden in den Tabellen und in allen Kurven die Konzentrationen in p-Werten vertreten. Das Symbol p wird nach der folgenden Formel errechnet:

$$(2) \quad P = \frac{\% \text{ der Dosis}}{\text{Liter Plasma}} \times \text{Körpergewicht in kg.}$$

Der p-Wert bringt mit sich einige Vorteile gegenüber der direkten Blutkonzentration. Der p-Wert ist unabhängig vom Körpergewicht der einzelnen Versuchsobjekte und von den verschiedenen hohen Dosierungen. Das erlaubt anhand dieser Umrechnung von den normalen Blutspiegeln einen direkten Vergleich von Objekten, trotz unterschiedlicher Gewichte und Dosierungen. Zusätzlich kann man durch p-Werte das Verteilungsvolumen einer Substanz in etwa abschätzen, weil in der Definition des p-Wertes ein $p = 100$ einer vollkommenen Substanzverteilung im Körper gleich ist, wenn man die Ausscheidungsvorgänge vernachlässigt.

II. Die Resorptionsquote von Blutspiegelkurven

A) Kurvenfläche

Die nach Wagner und Nelson (43,44) ausgearbeitete Formel für die Fläche unter der Blutspiegelkurve als Resorptionsquote wurde hier angewandt. Die Formel 3 lautet:

$$(3) \quad A_t = V_f (b + k_e \int_0^t b \, dt)$$

wo A_t = Area als Funktion der Zeit t

V_f = Verteilungsvolumen

b = Blutkonzentration bei Zeit t

k_e = Eliminationskonstante

Die Fläche unter einer Kurve nach Formel 3 zeigt die resorbierte Menge der Substanz an. Weil die experimentellen Kurven nicht formgemäß gestaltet sind, wurde nach Formel 4 die Fläche durch Integrationen von trapezoidalen Teilflächen errechnet.

$$(4) \quad A_t = \sum_{x=0}^{24} A'_x = \frac{p_x + p_{x-1}}{2} \cdot (t_x - t_{x-1})$$

wo A_t = Summe der gesamten Fläche

A'_x = Teilfläche

p_x bzw. p_{x-1} = Experimentelle p-Werte bei Zeit t_x bzw. t_{x-1}

B) Resorptionsvermögen

Bei einer semilogarithmischen Kurvendarstellung wird die Blutspiegelkurve einen linearen Aufstieg zeigen, so lange bis die Absorption schneller als die Elimination erfolgt. Genauso wenn die Eliminationsvorgänge überwiegen, ist ein linearer Abstieg zu erwarten.

Diese beiden Vorstellungen sind oft nicht der Fall, da eine Kurve eine Summation der Resorption und der Ausscheidung darstellt. Es ist aber möglich, von der Eliminationskurve erster Ordnung eine Linie zum Zeitpunkt t_0 zu extrapolieren, wodurch man an der Ordinate abschätzen kann, wie viel Absorption bei Zeitpunkt t_0 vorhanden wäre, wenn sofort nach der Verabreichung eine gleichmäßige Verteilung der Substanz im Körper stattgefunden hätte und noch keine Elimination im Gange wäre. Diese Postulation wird häufig für den Vergleich zwischen der Größe der Verteilungskompartimente und der Resorptionsvermögen der Substanz verwendet (5,10,42).

C) Vergleich der Resorption von verschiedenen Verabreichungen

Nach dem Prinzip der korrespondierenden Flächen von DOST (5) nimmt man an, daß die Fläche unter einer Kurve bei mehrmaligen intravenösen Verabreichungen der gleichen Dosis immer gleich bleibt und daß die Fläche unter der Kurve in direktem linearen Zusammenhang mit der Dosierung steht, wie in der Formel 5 ausgedrückt wird:

$$(5) \quad A_t = \frac{f \cdot D_o}{V_f \cdot k_e}$$

wo f = eine resorbierte Fraktion
 D_o = Dosis

Dieses Gesetz erlaubt den Vergleich von einer Substanz verabreicht in verschiedenen Wegen, wenn man annimmt, daß durch alle Wege die Substanz gleichmäßig metabolisiert wird. Es ist daher vorteilhaft, immer durch einen Weg verschiedene Zubereitungen einer Substanz miteinander zu vergleichen, z.B. eine Tablette, eine Solution, eine Retardform, die alle per os appliziert werden.

Wenn aber eine Ausscheidung erster Ordnung nicht vorhanden ist, z.B. wenn Enzyme und Eiweiße gesättigt werden, pharmakologische Kompartimente limitiert sind oder renale Ausscheidung in ihrer Filtration, Sekretion oder Resorption in Abhängigkeit vom Blutspiegel variiert, ist δ , die Menge resorbierte Substanz, nicht gleich für alle Applikationsmethoden. Bei einer intravenösen Verabreichung zum Beispiel wäre $\delta = 100\%$ und bei oraler Verabreichung wäre $\delta' = a\delta$ (wo a das metabolisierte Quantum ist) der resorbierte Anteil. Das Verhältnis zwischen beiden Applikationsarten bleibt aber gleich und kann daher so formuliert werden:

$$(6) \quad \delta'_1 / \delta'_2 = A_1 / A_2 \quad \frac{\left(\frac{K_{e1}}{K_{e2}} \right) \left(\frac{V_{f1}}{V_{f2}} \right)}$$

Anstatt zwei verschiedene Verabreichungswege kann man Formel 6 für zwei Probanden betrachten. Um aber zwei Probanden zu vergleichen, muß man annehmen, daß K_{e1} , K_{e2} , V_{f1} , V_{f2} , δ'_1 und δ'_2 gleich sind oder mindestens feststellbar. Das ist natürlich eine schlechte Annahme, weil Individuen sehr stark variieren. Daher ist die beste Kontrolle für eine Versuchsreihe von Präparaten immer derselbe Versuchsproband, wo K_e und V_f als Konstante angesehen werden dürften und als in Formel 7 ausgedrückt werden kann.

$$(7) \quad \delta'_1 / \delta'_2 = A_1 / A_2$$

Das gleiche wäre bei verschiedenen Dosierungen:

$$(8) \quad Da = \frac{A_{po} \cdot D_{iv}}{A_{iv} \cdot D_{po}} \times 100\%$$

wo Da = Dosisanteil in Prozent

D_{iv} = intravenöse Dosis

D_{po} = perorale Dosis

Von Formel 7 kann man verschlüsseln, daß in einem Individuum verschiedene Kurvenflächen, auch wenn die Dosierungen nicht gleich sind, für den Vergleich der Resorption genommen werden können. Wenn eine Appli-

kationsmethode als 100%ige Resorption betrachtet wird, z.B. eine Lösung oder eine intravenöse Injektion, dann kann man nach Formel 7 den Anteil der Substanzverfügbarkeit durch ein anderes Applikationsverfahren errechnen. Weiterhin kann man sagen, während die Unterschiede zwischen Probanden (nach Formel 6) die biologische Streuung unter den Probanden darstellen, werden die Streuungen bei einem Probanden nur die Schwankung in der biologischen Verfügbarkeit einer Zubereitung und die Wiederholungsrate in einem Individuum deutlich machen (5,10).

Bei der Berechnung der enteralen Resorptionsquoten von Papaverin und Eupaverin dienen diese Überlegungen. Die einzelnen Flächen von peroralen Verabreichungen wurden jeweils mit einer korrespondierenden Kontrollfläche verglichen. Die Kontrollfläche wurde durch die mittlere Fläche von intravenösen Applikationen ermittelt und als 100% Resorption eingesetzt. Weiterhin wurden die verschiedenen Versuchsprobanden jeder Zubereitungsreihe miteinander verglichen, um nach Formel 6 die biologische Streuung abzuschätzen.

III. Statistik

Für die Beurteilung von Blutspiegelkurven wurden die folgenden Formeln verwendet (45):

Mittelwert: $\bar{y} = \frac{\sum y}{n}$, wo y ein Element in Satz n ist.

Standardabweichung: $s = \sqrt{\frac{(y - \bar{y})^2}{n-1}}$

t-Verteilung: $\bar{y} \pm S_y$, wo S_y^2 gleich $\frac{s^2}{n}$ ist.

Zur Prüfung der Signifikanz zwischen zwei Mittelwerten wurde der t-Test angewandt mit einem $p = 0,05$.

5. Ergebnisse der Tierversuche

In den folgenden Tabellen sind die einzelnen Ergebnisse von Tierversuchen bei verschiedenen Zubereitungen des Papaverins und des Eupaverins dargestellt. Zusätzlich sind die Mittelwerte mit den Standardabweichungen jeder Versuchsreihe angegeben. Daraufhin sind die Einzelversuche und Mittelwerte in Kurven verdeutlicht. Die Werte in den Tabellen sind in $\mu\text{g/ml}$ bzw. ng/ml und in p-Werten eingetragen, während die Werte in den Kurven nur in den normierten p-Werten eingezeichnet wurden. Um einen Überblick zu schaffen, ist hier eine Liste der Tabellen und Abbildungen zusammengestellt.

- Tab. 3: Ergebnisse von Papaverinversuchen nach intravenösen und sämtlichen peroralen Applikationen.
- Tab. 4: Ergebnisse von Eupaverinversuchen nach intravenösen Verabreichungen und Verabreichung der Tablette 1/72.
- Tab. 5: Ergebnisse von Eupaverinversuchen mit reiner Wirksubstanz und Retard 3/72.
- Tab. 6: Ergebnisse von Eupaverinversuchen mit Retard 49/71, Pellet 3/73 und NYSCO Caps.
- Tab. 7: Mittelwerte von Papaverinversuchen.
- Tab. 8: Mittelwerte von Eupaverinversuchen nach intravenösen Verabreichungen, Verabreichung reiner Wirksubstanz, Tablette 1/72 und Retard 49/71.
- Tab. 9: Mittelwerte von Eupaverinversuchen mit Retard 3/72, Pellet 3/73 und NYSCO Caps.
- Tab. 10: Resorptionsquoten der verschiedenen galenischen Zubereitungen von Papaverin und Eupaverin.
- Tab. 11: Ergebnisse von Papaverin- und Eupaverin-Bestimmungen aus Hundekot.
- Abb. 6: Einzeldarstellungen von Papaverin iv. und reiner Wirksubstanz.
- Abb. 7: Einzeldarstellungen von Pavabid^R und Panergon^R.

- Abb. 8: Einzeldarstellungen von Eupaverin iv. und reiner Wirksubstanz
- Abb. 9: Einzeldarstellungen von Eupaverin Tab. 1/72.
- Abb. 10: Einzeldarstellungen von Eupaverin Ret. 49/71.
- Abb. 11: Einzeldarstellungen von Eupaverin Ret. 3/72.
- Abb. 12: Einzeldarstellungen von Eupaverin Pellets 3/73 und NYSCO Caps.
- Abb. 13: Mittelwerte von allen Papaverinversuchen.
- Abb. 14: Mittelwerte von den Eupaverinversuchen.
- Abb. 15: Vergleichskurven von Mittelwerten der Retardformen.

Tabelle 3: Ergebnisse von Papaverinversuchen mit intravenösen und peroralen Zubereitungen:

Papaverin i.v. 60 mg						Papaverin rein peros 100 mg					
<u>Tier I</u>			<u>Tier II</u>			<u>Tier I</u>		<u>Tier III</u>		<u>Tier III</u>	
Std.	ng/ml	p	ng/ml	p		ng/ml	p	ng/ml	p	ng/ml	p
0,12	2,005	48,46	1.972	47,64	--	--	--	--	--	--	--
0,25	1.850	44,72	1.316	31,80	--	--	--	--	--	--	--
0,50	1.655	39,99	1.247	30,13	8	0,11	205	2,77	129	1,74	
1	815	19,71	543	13,11	109	1,58	127	1,72	132	1,78	
2	689	16,66	340	8,23	432	6,25	75	1,04	136	1,84	
4	204	4,93	167	4,05	133	1,93	34	0,46	--	--	
8	33	0,79	33	0,81	36	0,52	31	0,42	25	0,33	
12	--	--	22	0,53	32	0,46	20	0,27	--	--	
24	17	0,40	7	0,18	8	0,11	19	0,27	--	--	

Pavabid peros 150 mg retard

Panergon peros 150 mg retard

<u>Tier I</u>			<u>Tier I</u>			<u>Tier II</u>			<u>Tier I</u>			<u>Tier II</u>			<u>Tier III</u>		
Std.	ng/ml	p	ng/ml	p		ng/ml	p		ng/ml	p		ng/ml	p		ng/ml	p	
0,50	4	0,04	--	--	--	--	--	--	280	2,70	43	0,42	15	0,14			
1	15	0,15	19	0,19	23	0,22			36	0,34	54	0,52	13	0,12			
2	21	0,20	113	1,09	37	0,36			144	0,39	13	0,13	23	0,21			
4	22	0,21	45	0,43	16	0,16			65	0,62	20	0,19	12	0,11			
8	26	0,25	37	0,36	22	0,21			88	0,85	14	0,13	7	0,06			
12	--	--	25	0,24	57	0,55			36	0,35	39	0,38	5	0,04			
24	40	0,39	9	0,08	30	0,29			20	0,19	19	0,18	15	0,14			

Tabelle 4: Ergebnisse von Eupaverinversuchen mit intravenösen und Tablette 1/72 Zubereitungen

Eupaverin i v. 60 mg					Eupaverin Tab. 1/72 100 mg					
	<u>Tier III</u>		<u>Tier II</u>		<u>Tier I</u>		<u>Tier I</u>		<u>Tier II</u>	
Std.	ug/ml	p	ug/ml	p	ug/ml	p	ng/ml	p	ng/ml	p
0,10	1,700	76,5	4,330	104,5	4,137	100,0	--	--	--	--
0,25	0,800	36,0	3,025	68,3	--	--	--	--	--	--
0,50	0,750	33,8	1,474	44,4	3,375	81,5	17,8	0,26	66,0	0,96
1,0	--	--	0,824	19,9	1,459	21,2	110,0	1,59	155,0	2,25
1,5	0,280	12,6	--	--	--	--	143,8	2,08	50,4	0,73?
2,0	0,210	9,5	0,686	16,6	0,839	20,3	76,0	1,10	80,0	1,16
3,0	--	--	--	--	--	--	39,2	0,57	49,9	0,72
4,0	0,125	5,6	0,217	5,2	0,239	5,7	26,0	0,37	43,7	0,64
6,5	--	--	--	--	--	--	29,6	0,43	20,0	0,28
8,0	--	--	0,058	1,4	0,059	1,4	21,9	0,32	17,0	0,25
24,0	--	--	0,072	1,0	0,045	1,1	--	--	--	--

Eupaverin Tablette 1/72 100 mg										
Std.	<u>Tier III</u>		<u>Tier II</u>		<u>Tier III</u>		<u>Tier III</u>		<u>Tier II</u>	
	ng/ml	p	ng/ml	p	ng/ml	p	ng/ml	p	ng/ml	p
0,5	43,6	0,59	131,1	1,90	87,4	1,18	67,4	0,91	--	--
1,0	110,0	1,49	178,1	2,58	143,7	1,94	218,7	2,95	65,0	0,94
1,5	29,7	0,40	--	--	--	--	--	--	--	--
2,0	29,3	0,39	--	--	--	--	--	--	--	--
3,0	16,0	0,22	--	--	--	--	--	--	--	--
4,0	28,7	0,39	44,0	0,64	22,4	0,30	18,3	0,25	19,3	0,49
6,5	11,9	0,16	--	--	--	--	--	--	--	--
8,0	14,4	0,19	30,6	0,44	8,9	0,12	8,5	0,11	18,3	0,27
12,0	--	--	--	--	--	--	7,3	0,098	--	--
24,0	--	--	8,1	0,12	10,3	0,14	6,13	0,083	9,7	0,14
32,0	--	--	nicht meßbar		nicht meßbar		nicht meßbar		nicht meßbar	

Tabelle 5: Ergebnisse von Eupaverinversuchen mit reiner Wirksubstanz und Eupaverin retard 3/72

Eupaverin rein Eupaverin retard 3/72 per os 100 mg
per os 100 mg

Std.	<u>Tier I</u>			<u>Tier I</u>			<u>Tier II</u>		<u>Tier III</u>	
	ng/ml	p		ng/ml	p		ng/ml	p	ng/ml	p
0,25	55,0	0,80		--	--		--	--	--	--
0,5	57,5	0,83		15,7	0,23		48,8	0,71	18,5	0,25
1,0	62,8	0,91		20,6	0,41		65,1	0,94	40,0	0,54
2,0	112,0	1,63		19,4	0,28		65,1	0,94	23,4	0,32
3,0	--	--		26,0	0,38		31,9	0,46	17,9	0,24
4,0	110,0	1,59		26,6	0,39		16,4	0,24	18,4	0,25
6,0	--	--		29,9	0,43		10,6	0,15	14,5	0,196
8,0	32,5	0,47		45,0	0,65		7,1	0,104	11,0	0,15
12,0	--	--		10,5	0,15		6,5	0,094	10,5	0,14
24,0	--	--		9,4	0,13		6,4	0,091	4,0	0,057

Eupaverin retard 3/72 per os 100 mg

Std.	<u>Tier I</u>			<u>Tier II</u>			<u>Tier III</u>		<u>Tier III</u>	
	ng/ml	p		ng/ml	p		ng/ml	p	ng/ml	p
0,5	6,1	0,088		3,9	0,056		17,3	0,23	--	--
1,0	6,8	0,099		6,5	0,094		26,5	0,36	46,8	0,63
2,0	12,2	0,178		10,2	0,149		70,2	0,95	--	--
4,0	8,8	0,126		8,0	0,116		17,5	0,24	33,9	0,46
8,0	8,5	0,124		7,9	0,114		14,9	0,20	19,6	0,26
12,0	8,0	0,116		7,5	0,108		--	--	--	--
24,0	7,9	0,114		7,0	0,101		9,9	0,13	14,0	0,189
20,0	nicht meßbar			nicht meßbar			nicht meßbar		nicht meßbar	

Tabelle 6: Eupaverinversuche mit Eupaverin retard 49/71,
Eupaverin Pellet 3/73 und NYSCO Caps.

Eupaverin retard 49/71 per os 100 mg

Std.	<u>Tier I</u>		<u>Tier II</u>		<u>Tier III</u>		<u>Tier II</u>		<u>Tier III</u>	
	ng/ml	p	ng/ml	p	ng/ml	p	ng/ml	p	ng/ml	p
0,5	16,9	0,24	19,6	0,28	20,2	0,27	--	--	--	--
1,0	22,8	0,33	22,4	0,33	23,8	0,32	32,5	0,47	18,4	0,25
2,0	55,1	0,80	25,0	0,36	82,5	1,11	46,9	0,68	24,8	0,33
3,0	42,4	0,62	29,8	0,43	69,8	0,94	--	--	--	--
4,0	50,4	0,73	25,9	0,38	73,8	0,99	41,1	0,59	60,0	0,81
6,0	43,0	0,62	22,5	0,33	43,6	0,59	--	--	--	--
8,0	42,9	0,61	20,1	0,29	47,4	0,64	26,5	0,38	19,5	0,26
12,0	--	--	20,2	0,29	42,0	0,54	--	--	--	--
24,0	35,5	0,52	--	--	43,1	0,58	22,2	0,32	18,3	0,25
32,0	nicht meßbar		--	--	nicht meßbar		nicht meßbar		nicht meßbar	

Eupaverin Pellet 3/73 per os 100 mg Eupaverin NYSCO Caps per os 100 mg

	<u>Tier IV</u>		<u>Tier V</u>		<u>Tier V</u>		<u>Tier IV</u>		<u>Tier V</u>		<u>Tier IV</u>	
	ng/ml	p	ng/ml	p	ng/ml	p	ng/ml	p	ng/ml	p	ng/ml	p
0,5	4,4	0,026	13,5	0,15	--	--	6,1	0,07	62,5	0,34	21,9	0,13
1,0	4,4	0,026	13,5	0,15	73,9	0,41	13,5	0,16	118,9	0,65	26,4	0,16
2,0	7,1	0,042	13,5	0,15	337,9	1,91	16,9	0,20	63,5	0,35	125,7	0,75
3,0	530,4	3,21	74,9	0,82	138,5	0,75	30,4	0,37	54,7	3,05	67,2	0,40
4,0	623,3	3,77	121,6	1,34	71,6	0,34	16,9	0,20	120,3	0,66	41,6	0,25
8,0	70,9	0,43	74,3	0,82	24,7	0,17	13,5	0,16	30,4	0,17	11,8	0,07
10,0	14,5	0,09	128,4	1,41	13,2	0,07	47,3	0,57	8,8	0,05	6,4	0,04
24,0	46,3	0,28	57,4	0,63	11,1	0,06	60,8	0,74	14,5	0,08	5,7	0,03
32,0	nicht meßbar		--	--	--	--	--	--	nicht meßbar		--	--
48,0	nicht meßbar		--	--	--	--	--	--	nicht meßbar		--	--

Tabelle 7: Mittelwerte mit Standardabweichungen von Papaverinversuchen

Papaverin i.v. n = 2									
Std.	0,10	0,25	0,50	1	2	4	8	12	24
p	45,1	38,3	35,1	16,4	12,4	4,5	0,8	0,5	0,3
Papaverin rein 100 mg n = 3									
Std.	0,50		1		2	4	8	12	24
p	1,54 ± 1,34		1,69 ± 1,03		3,04 ± 2,81	1,19 ± 1,04	0,42 ± 0,09	0,37 ± 0,12	0,19 ± 0,11
Papavid ^R Pellets 150 mg po. n = 3									
Std.			1		2	4	8	12	24
			0,19 ± 0,04		0,55 ± 0,47	0,27 ± 0,15	0,27 ± 0,08	0,35 ± 0,17	0,25 ± 0,05
Panergon ^R Pellets 150 mg po. n = 3									
Std.		0,50	1		2	4	8	12	24
p		1,08	0,33 ± 0,04		0,58 ± 0,49	0,31 ± 0,08	0,35 ± 0,13	0,26 ± 0,04	0,17 ± 0,01

Tabelle 8: Mittelwerte mit Standardabweichungen von Eupaverinversuchen.

Eupaverin i.v. 60 mg n = 3									
Std.	0,12	0,25	0,50	1	2	4	8	24	
p	93,7±15,1	71,7±19,6	53,2±25,0	20,6±0,60	16,0±4,6	5,50±0,3	1,42±0,03	1,06±0,04	
Eupaverin rein po. 100 mg n = 1									
Std.		0,25	0,50	1	2	4	8		
p		0,80	0,83	0,91	1,63	1,60	0,47		
Eupaverin Tablette 100 mg Vers. Nr. 1/72 n = 5									
Std.	0,50	1	2	3	4	8	12	24	
p	0,66±0,32	1,94±0,76	0,95±0,40	0,53±0,14	0,39±0,15	0,22±0,09	0,16±0,09	0,11±0,04	
Eupaverin retard 100 mg Vers. Nr. 49/71 n = 4									
Std.	0,50	1	2	3	4*	8*	12	24*	
	0,25±0,03	0,34±0,09	0,73±0,33	0,68±0,19	0,79±0,16	0,48±0,19	0,45±0,16	0,41±0,15	

* Signifikanter Unterschied zwischen Eu. ret. und Eu. tabl. p = 0,05.

Tabelle 9: Mittelwerte mit Standardabweichungen von Eupaverinversuchen

Eupaverin retard 100 mg		Vers. Nr. 3/72		n = 7			
Std.	0,50	1	2	3	4	8	12
p	0,26±0,24	0,40±0,30	0,48±0,35	0,34±0,16	0,26±0,13	0,23±0,19	0,15±0,05
							0,11±0,04
Eupaverin Pellet 2 x 100 mg		Vers. Nr. 3/73		n = 3			
Std.	0,50	1	2	3	4	8	10
p	0,09	0,20±0,19	0,88±0,95	1,59±1,98	1,82±2,49	0,43±0,39	0,52±0,77
							0,32±0,29
Eupaverin NYSCO-Caps 2 x 100 mg		Vers. Nr. 3/74		n = 3			
Std.	0,50	1	2	3	4	8	10
p	0,18±0,14	0,32±0,28	0,43±0,28	1,27±1,54	0,37±0,34	0,13±0,05	0,22±0,30
							0,29±0,41

Tabelle 10: Resorptionsquoten (% der Dosis) der galen-
ischen Zubereitungen von Papaverin und
Eupaverin bei Beagle-Hunden.

Papaverin 100mg reine Wirksubstanz	19,7% d. Dosis
Pavabid (Marion Lab.) 150mg Pellet	9,1% d. Dosis
Panergon (Mack) 150mg Pellet	8,6% d. Dosis
Eupaverin 100mg reine Wirksubstanz	9,4% d. Dosis
Eupaverin Tablette 100mg Vers. Nr. 1/72	5,8% d. Dosis
Eupaverin retard 100mg Vers. Nr. 3/72	3,9% d. Dosis
Eupaverin retard 100mg Vers. Nr. 49/71	9,7% d. Dosis
Eupaverin Pellet 100mg. Vers. Nr. 3/73	12,5% d. Dosis ⁺
Eupaverin NYSCaps 100mg Pellet	5,9% d. Dosis ⁺

⁺ Wegen der starken Schwankung der individuellen Werte
(s. Tabelle 6 u. 9) sind die hier angegebenen Resorptions-
quoten mit Vorsicht zu genießen.

Tabelle 11: Ergebnisse der Bestimmungen von unverändertem Papaverin bzw. Eupaverin aus Hundekot.

Die angegebenen Werte wurden von Hundekot gewonnen, der über 24 Stunden (48 Std.) nach der Substanzapplikation gesammelt und analysiert wurde. Die Methode ist in 5.4-IV zu entnehmen. Alle in mg angegebenen Werte sind die Mengen unresorbierter Substanz, die im Kot gefunden wurden.

Pavabid^R (Marion Lab.) 150 mg Papaverin retard

Tier I	67,95 mg	45,3% d. Dosis
Tier II	17,65 mg	11,7% d. Dosis
Mittelwert	42,80 mg	28,6% d. Dosis

Eupaverin Tablette 1/72 100 mg

Tier II (48Std.)	1,39 mg	1,39% d. Dosis
Tier II (48Std.)	4,25 mg	4,25% d. Dosis
Tier III	0,169mg	0,17% d. Dosis
Mittelwert	1,94 mg	1,94% d. Dosis

Eupaverin retard 49/71 100 mg

Tier I	47,79 mg	47,79% d. Dosis
Tier II	7,17 mg	7,17% d. Dosis
Tier III	22,38 mg	22,38% d. Dosis
Mittelwert	25,78 mg	25,78% d. Dosis

Eupaverin retard 3/72 100 mg

Tier I	16,64 mg	16,64% d. Dosis
Tier I	35,46 mg	35,46% d. Dosis
Tier II	10,25 mg	10,25% d. Dosis
Tier II	50,92 mg	50,92% d. Dosis
Tier III	31,02 mg	31,02% d. Dosis
Mittelwert	28,86 mg	28,86% d. Dosis

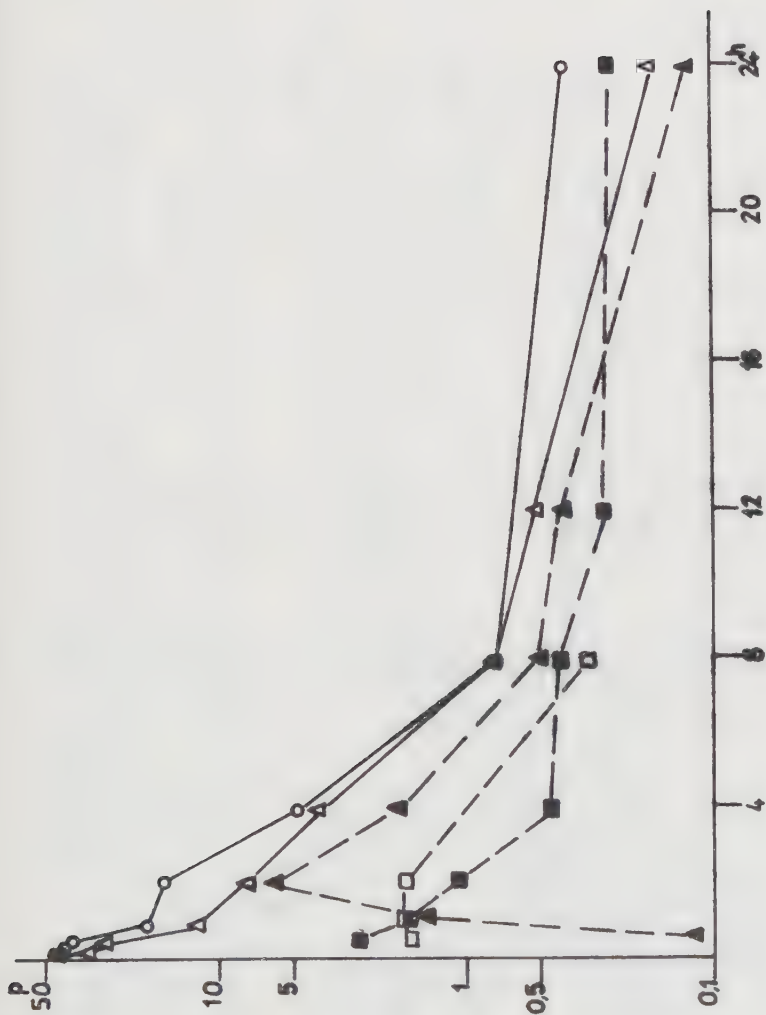


Abb. 6: Einzelversuche von intravenösen und reiner Wirksubstanz po. Verabreichungen des Papaverins.

O—O Tier I, 60 mg Papaverin i.v.
 ▲—▲ Tier II, 60 mg Papaverin i.v.
 □—□ Tier III, 100 mg Papaverin po.
 ■—■ Tier I, 100 mg Papaverin po.

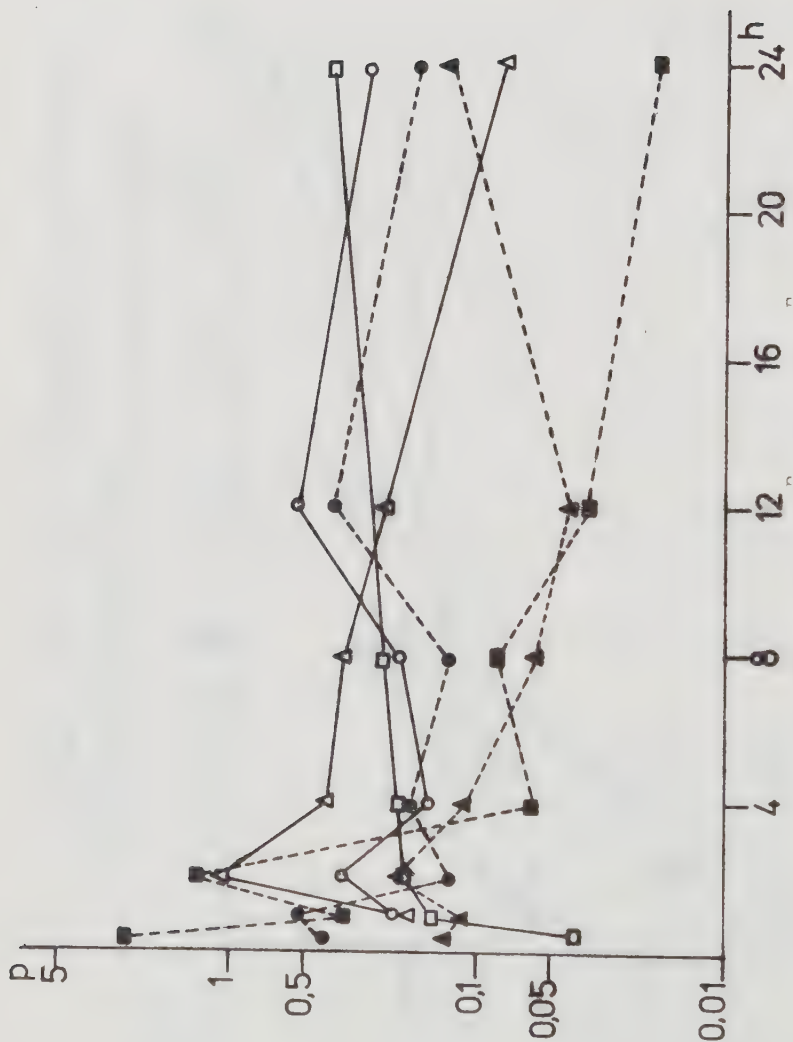


Abb. 7: Einzelversuche von Pavabid^R und Panergon^R -Papaverin Retardformen.
 Δ—Δ Tier I, □—□ Tier I, ○—○ Tier II, Pavabid^R 150 mg po.
 ●—● Tier I, ●—● Tier II, ▲—▲ Tier III, Panergon^R 150 mg po.

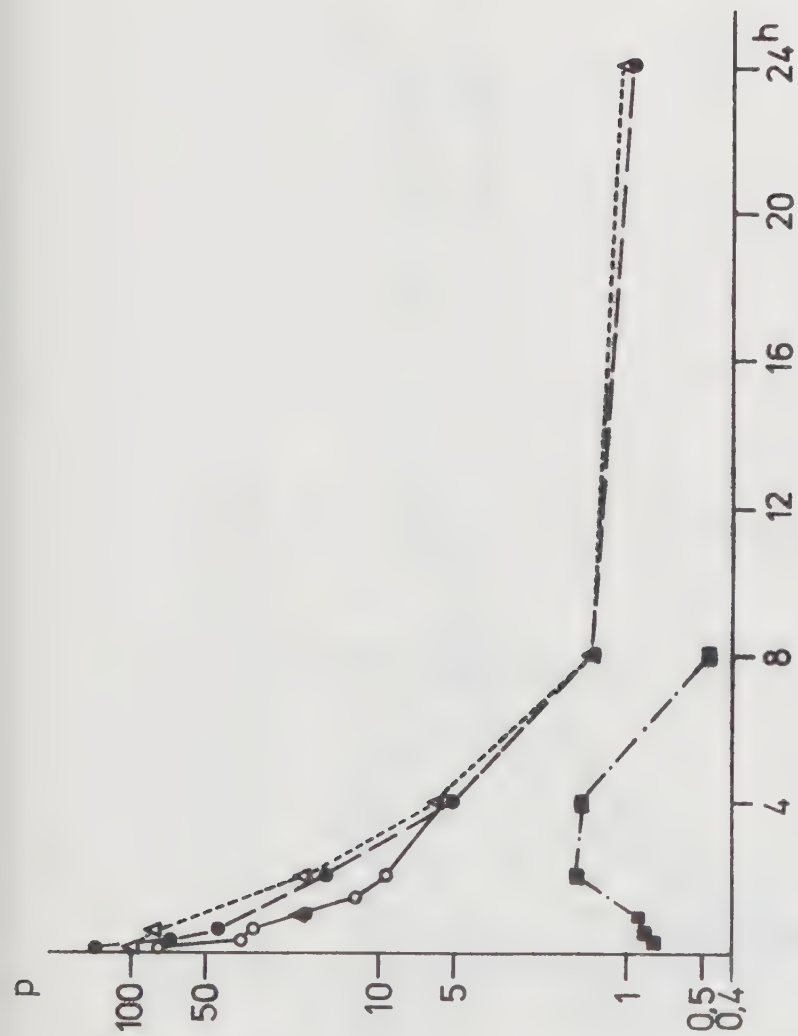


Abb. 8: Einzelversuche von intravenösen und reiner Wirksubstanz po.
Eupaverin-Versuche.

○—○ Tier III, ●—● Tier II, ▲—▲ Tier I 60 mg Eupaverin i.v.
□—□ Tier I Eupaverin rein 100 mg po.

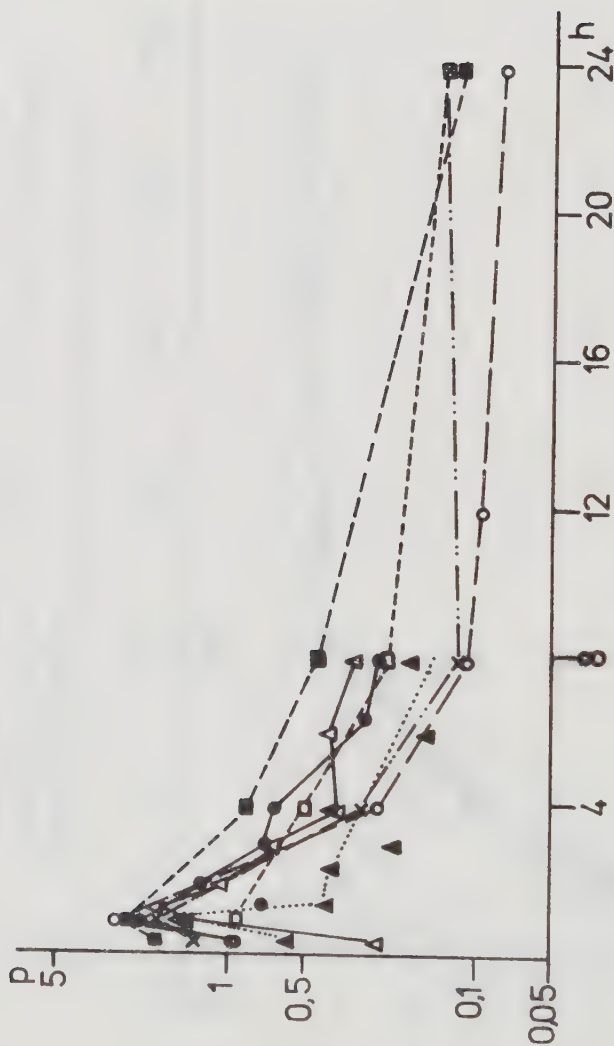


Abb. 9: Einzelversuche von Eupaverin Tablette 1/72 100 mg po.
 Δ—Δ Tier I, ▲.....▲ Tier II, ●—● Tier III, ■—■ Tier II,
 x—x Tier III, □—□ Tier III, □—□ Tier II.

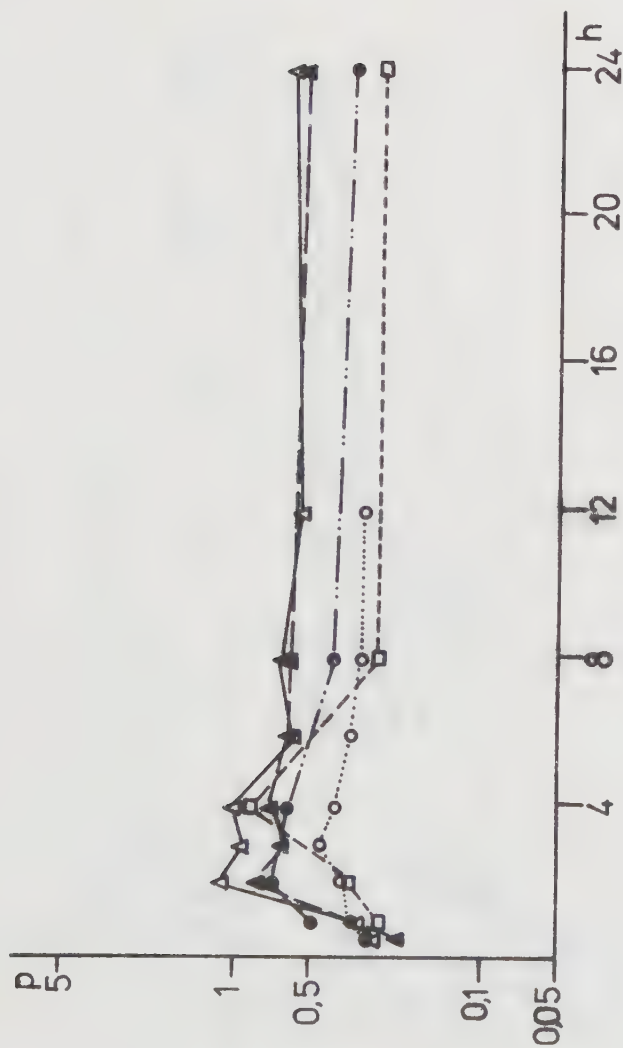
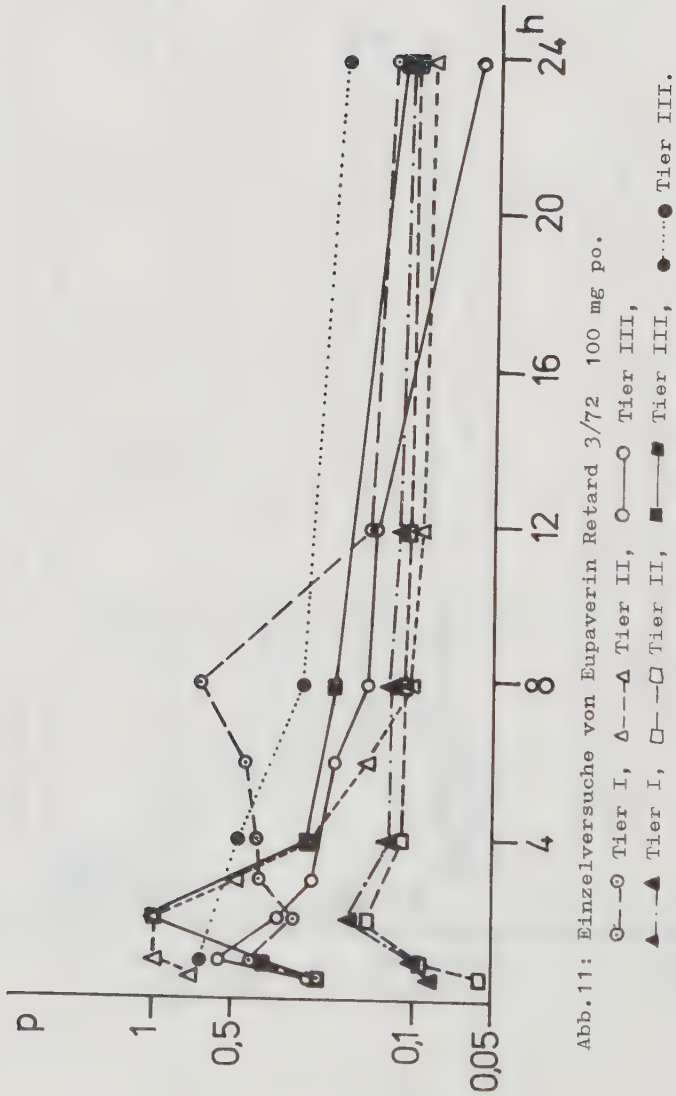


Abb. 10: Einzelversuche von Eupaverin Retard 49/71 100 mg po.

▲—▲ Tier I, ◐.....◐ Tier II, ◻—◻ Tier III, ●—● Tier IV, D—D Tier V.



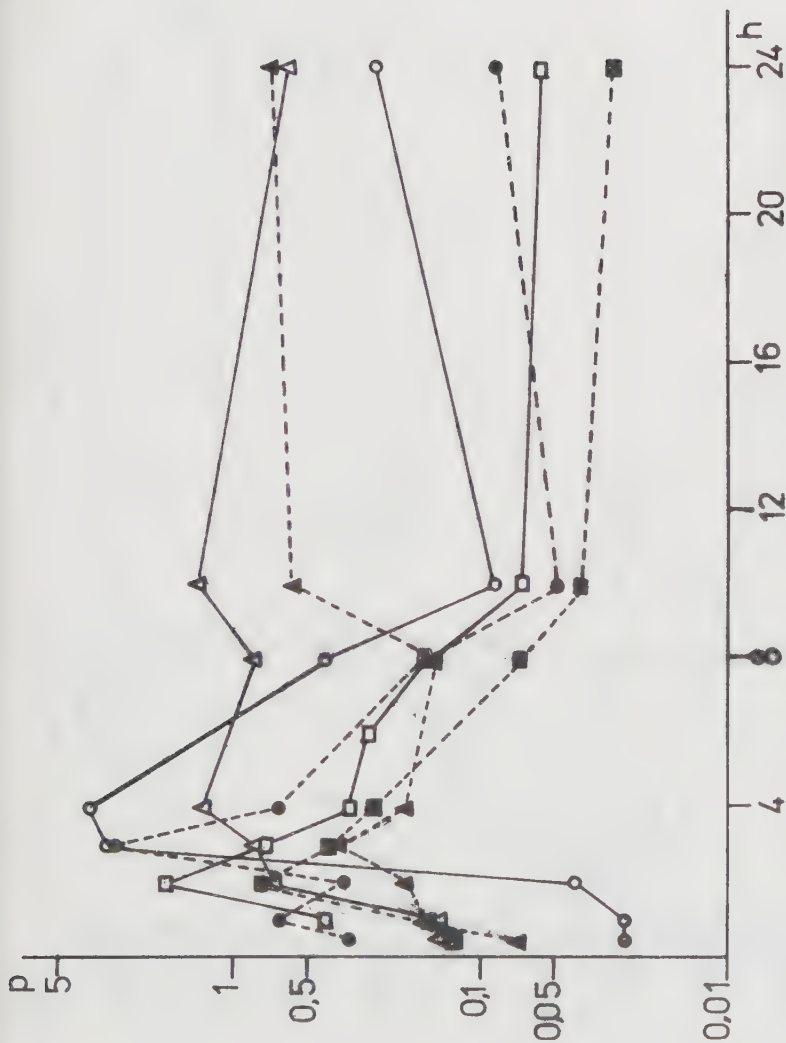


Abb. 12: Einzelversuche von Eupaverin Pellet 3/73 und Eupaverin NYSCO-Gap.
 ○—○ Tier IV, △—△ Tier V, □—□ Tier V Eupaverin Pellet 2 x 100 mg po.
 ▲—▲ Tier IV, ●—● Tier V, ■—■ Tier IV Eupaverin NYSCO 2 x 100 mg po.

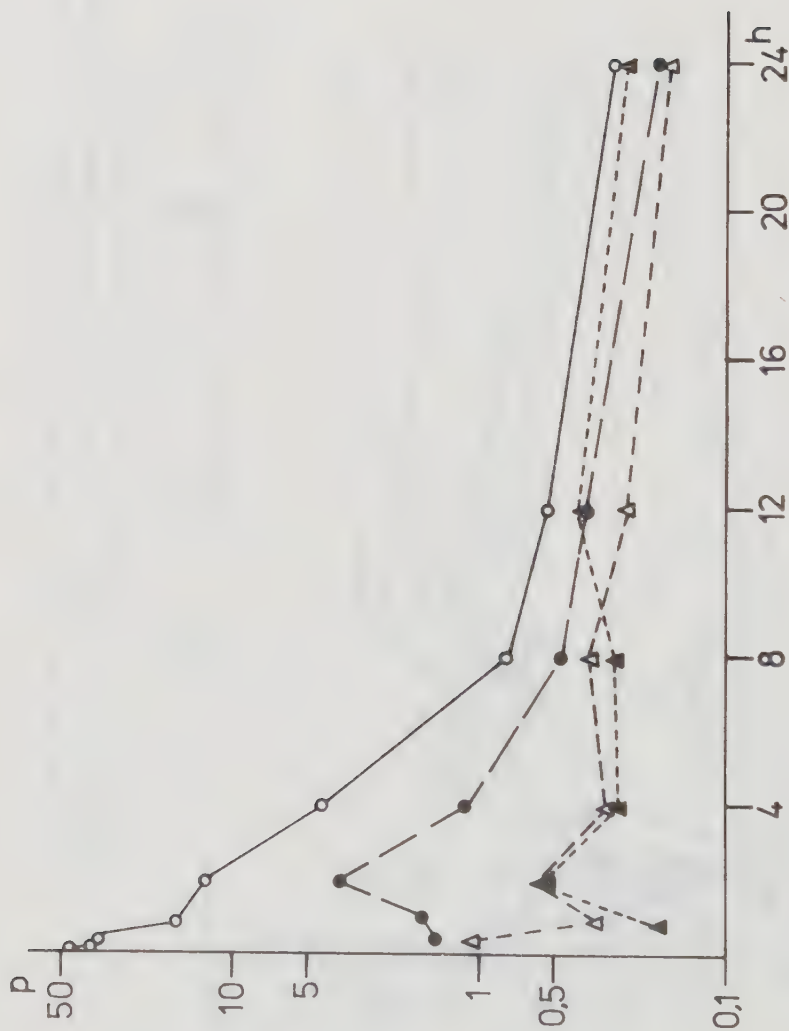


Abb. 13: Mittelwertdarstellungen von verschiedenen Papaverinzubereitungen.

○—○ Papaverin i.v., ●—● reine Wirksubstanz,
 ▲—▲ Panergon po., ▲—▲ Pavabid po.,

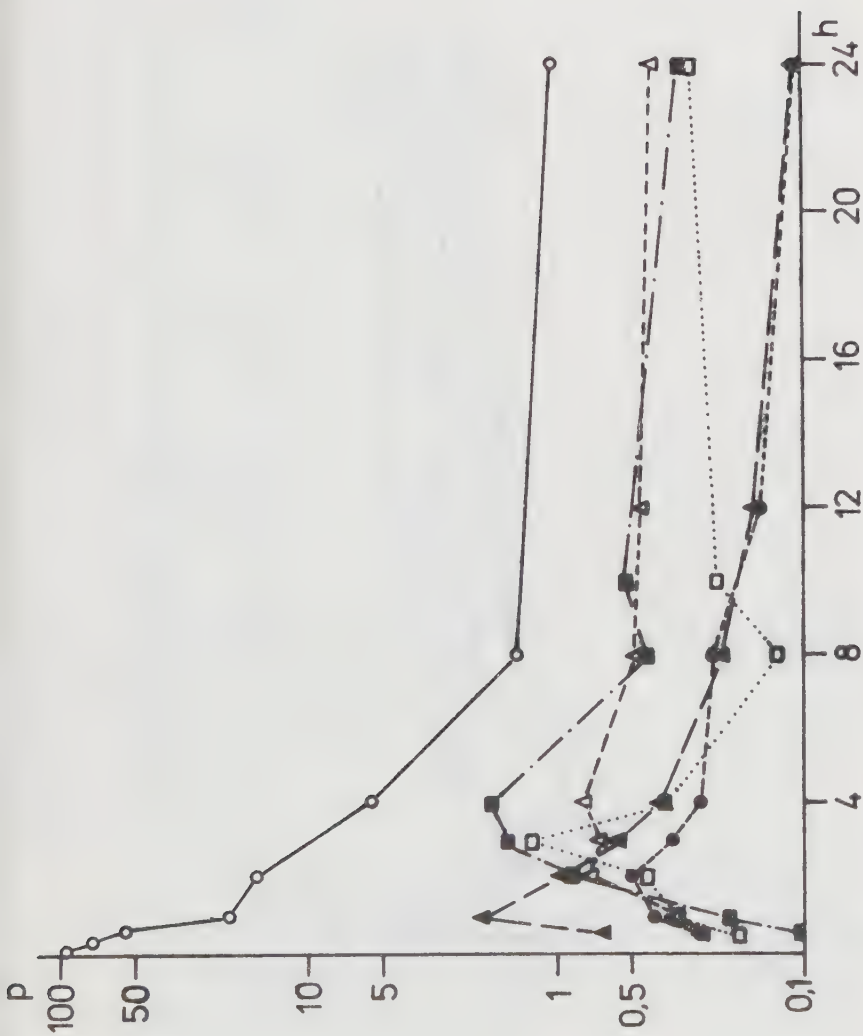


Abb. 14: Mittelwertdarstellungen von verschiedenen Eupaverinzubereitungen.

O—O Eupaverin i.v., ▲—▲ Eupaverin Tabl. 1/72, △—△ Eupaverin Ret. 49/71
 —●— Eupaverin Ret. 3/72, ■—■ Eupaverin Pellet 3/73, □—□ NYSCO Caps.

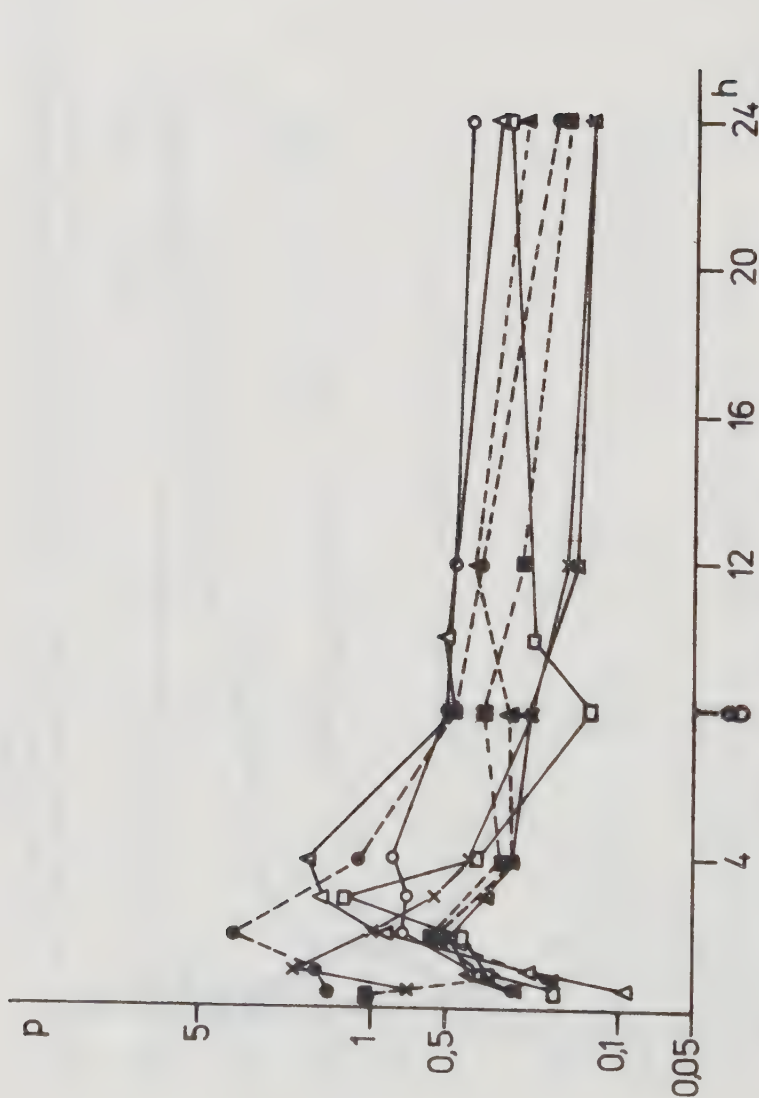


Abb. 15: Mittelwertdarstellungen von verschiedenen Retardformen des Papaverins und Eupaverins sowie der Eupaverin Tablette 1/72 und der reinen Papaverinwirkstoffzubereitung.

5.1. Verlauf der Blutspiegelkurven

Papaverin-Applikationen:

Die Papaverin-Blutspiegelkonzentrationen nach intravenöser und peroraler Applikation lagen wesentlich im gleichen Niveau wie die Konzentrationen von Eupaverinversuchen, wie aus den Tabellen 7, 8, 9 und den Abbildungen 13, 14 und 15 hervorgeht. Die Einzelversuche sind in Tab. 3 und in Abb. 6 und 7, die Mittelwerte in Abb. 13 und 15 und die Mittelwerte mit Standardabweichungen in Tab. 7 dargestellt.

Papaverin iv. 60 mg/Tier

Die p-Werte nach intravenöser Verabreichung und der steile Kurvenverlauf (Tab. 3, Abb. 6 und 13) verdeutlichen, daß Papaverin ein großes Verteilungsvolumen besitzt. Dieses kann man mit dem fiktiven p_0 -Wert abschätzen, den man durch Extrapolation der erster Ordnung-Eliminationskurve zum Zeitpunkt t_0 erhalten kann (s. 4.8., p-Wert und Resorptionsvermögen). Im Falle von Papaverin ist der $p_0 = 25$, während der $p_0 = 40$ bei Eupaverin iv. ist. Zusätzlich zeigen das p-Wertmaximum von 48 nach 6 Min. und der $p = 10$ nach 3 Std., wie schnell die Substanz vom Blut ins Gewebe abdiffundiert. Vom Blutspiegel lassen sich zwei Eliminationshalbwertszeiten ablesen - von 1 bis 8 Std. mit ca. 1 1/2 Std., von 8 bis 24 Std. mit ca. 11 Std.

Reine Papaverinhydrochlorierte Base 100 mg

Die orale Verabreichung vom reinen Papaverin-hydrochlorid ergab eine Maximumblutspiegelkonzentration mit einem p-Wert von 3 nach 3 Std. (Abb. 6, Tab. 3). Die reine Wirksubstanz in Gelatine kapseln wurde mit Verzögerung (Maximum erst nach 2 Std.) aber sehr gut resorbiert (Tab. 10). Der Blutspiegelverlauf entspricht beinahe der intravenösen Blut-

spiegelkurve mit den gleichen Eliminationshalbwertszeiten aber mit etwas niedrigeren Blutkonzentrationen.

Die bei der Retardform verhältnismäßig hohe Bilanz liegt daran, daß eben nur reine Wirksubstanz ohne Hilfsmittel verabreicht wurde. Die massive orale Zufuhr dient als Vergleichsmöglichkeit zwischen oralen und intravenösen Applikationswegen und erlaubt daher die Abschätzung von verschiedenen metabolischen Vorgängen, wie in Kapitel 4.8.C diskutiert wurde.

Die ermittelten Blutspiegelkonzentrationen lagen im Durchschnitt um den Faktor 2 niedriger als die der Eupaverin-Präparate Ret. 49/71 und Ret. 3/73 und ungefähr gleich wie die des Eupaverin Ret. 3/72 und des NYSCO Pellet (Tab. 7, 8 und 9, Abb. 16). Die Einzelversuche (Abb. 7, Tab. 3) zeigen sehr viel Streuung, obwohl das Pavabid etwas konstanter war als das Panergon. Beide Präparate erweisen p-Werte von 0,2-0,7 auf, entsprechend Papaverinmengen von 20 bis 90 ng/ml Plasma. Die Zubereitungen erzeugten kein einheitliches Plateau, obwohl das Konzentrationsmaximum schnell erreicht wurde und die Resorptionsquoten - des Pavabids mit 9,1% und des Panergons mit 8,6% - sehr hoch waren (Tab. 10). Trotzdem waren die Blutspiegelkonzentrationen in den ersten 8 Std. deutlich niedriger als die der 100 mg reinen Wirksubstanz (Abb. 13, Tab. 7), während von 8 bis 24 Std. alle 3 Bilanzen gleich verliefen, so daß eine erhebliche Retardwirkung nicht bestätigt werden kann.

Eupaverin-Applikationen

Die Eupaverin-Versuchsergebnisse sind in Tab. 4, 5 und 6 angegeben und nochmals als Mittelwerte mit Standardabweichungen in Tab. 8 und 9. Die Einzelbilanzen sind in Abb. 8 bis 12 und die Mittelwerte in Abb. 14 und 15 dargestellt.

Eupaverin iv. 60 mg/Tier

Die drei Beagleversuche zeigen kaum Streuung in dem Kurvenverlauf, wie in Abb. 8 verdeutlicht ist. Die Kurven fallen in den ersten 2 Std. steil ab und dann bleiben von 2 bis 8 Std. ziemlich konstant. Dieses deutet auf eine rasche kurzfristige Verteilung mit einer wahrscheinlichen Sättigung der Kompartimente hin. Die hohen p-Werte lassen vermuten, daß das Verteilungsvolumen des Eupaverins relativ kleiner ist als bei Papaverin. Der $p_0 = \text{ca. } 40$, erhalten durch Extrapolation der iv. Kurve zum Zeitpunkt t_0 , ist ein Hinweis darauf. Im Vergleich mit der Papaverinbilanz mit $p_0 = 25$ liegt das Eupaverin um einen Faktor 2 höher.

Aus dem Kurvenverlauf lassen sich 3 Eliminationshalbwertszeiten ablesen: von 0 bis 1 Std. mit 30 Min., von 1 bis 8 Std. mit ca. 2 Std. und von 8 bis 24 Std. mit ca. 48 Std. Damit ist der Bilanzverlauf sehr ähnlich mit dem von Papaverin mit Ausnahme der Höhe der p-Werte. Die anhaltende Konzentration von 8 bis 24 Std. ist wahrscheinlich abhängig von dem kleinen Verteilungsvolumen und einer hohen Plasmaproteinbindungsrate. Trotz des hohen p_{24} ($\bar{x} = 1,06 \pm 0,04$) ist nach 36 Std. Eupaverin nicht mehr nachweisbar im Blut.

Eupaverin Tablette 1/72 100 mg

Die Ergebnisse von 7 Hunden über 8 bzw. 24 Stundenverlauf sind in Abb. 9 und Tab. 4 ersichtlich. Aus den Bilanzen ist zu bemerken, daß das Eupaverin schon nach 30 Min. im Blut nachzuweisen ist und nach ca. 1 Std. das Maximum mit einem p-Wert von $1,94 \pm 0,76$ aufweist. Die Tablette 1/72 wurde etwas schneller aber deutlich weniger gut resorbiert als die reine Wirksubstanz in Gelatine kapsel. Die folgenden Eliminationshalbwertszeiten wurden von den Kurven ermittelt: von 0 bis 3 Std. mit ca. 1 Std., von

3 bis 8 Std. mit ca. 3 Std. und von 8 bis 24 Std. mit ca. 16 Std.. Damit entspricht der Kurvenverlauf der Tablette 1/72 von 0 bis 8 Std. ungefähr den nach einer intravenösen Applikation ermittelten Halbwertszeiten.

Eupaverin Retard 49/71 100 mg

Die 5 Einzelversuche sind in Abb. 10 und Tab. 6, sowohl als Mittelwerte in Abb. 14 und 15 und mit Standardabweichungen in Tab. 8 dargestellt. Obwohl der schon nach 2 Std. erreichte Peak von $p_2 = 0,73$ niedriger als vergleichsweise der Maximalwert von der Tablette 1/72 liegt, wurde von 2 bis 24 Std. ein deutliches nur wenig schwankendes Plateau beobachtet. Ab 4 Std. bis zu 24 Std. sind die Blutspiegelkonzentrationen der Retardzubereitung sogar höher als die der Tablette 1/72. Damit erfüllt diese Zubereitung die in 3.2. diskutierten Kriterien für ein langwirkendes Präparat.

Eupaverin Retard 3/72 100 mg

Wie aus Abb. 14 hervorgeht, liegt das Maximum der Blutspiegelkonzentrationen dieser Retardform mit einem p-Wert von etwa 0,48 unter dem Blutspiegelniveau der Retardform 49/71. Obwohl das Maximum schon nach 2 Std. erreicht wurde, sinkt die Kurve gleichmäßig ab und bereits nach 8 Std. nimmt sie den gleichen Verlauf wie die Tablette 1/72 (Abb. 14, Tab. 8 und 9). Die biologische Streuung (Tab. 5, Abb. 11) in den 7 Tierversuchen waren erheblich stark innerhalb der Population und einzelnen Tieren. Aufgrund des Blutspiegelverlaufes und der Einzelstreuungen dieser galenischen Zubereitung ist eine Retardwirkung nur schwach angedeutet. Die Resorptionsquote von 3,9% war mit den anderen Quoten nicht positiv zu vergleichen (Tab. 10).

Eupaverin Pellet 3/73 und NYSCO Caps je 100 mg

Die Blutbilanzen der beiden Pelletformen sind als Einzelversuche in Tab. 6 und Abb. 12 zu besichtigen. Obwohl

der Herstellungsmechanismus der gleiche wie bei Pavabid und Panergon ist, treten die Streuungen zwischen den einzelnen Versuchen hier noch stärker auf. Die Blutspiegelkonzentrationen lagen im vergleichbaren Bereich zu den anderen Eupaverin- und Papaverin-Präparaten. Die Zubereitungen hatten kein einheitliches Plateau und erreichten mit 3 bis 4 Std. erst ihre Konzentrationsmaxima, der Tablette 1/72 gegenüber ziemlich spät. Die Resorptionsquoten des Eupaverin Pellets mit 12,5% und des NYSCO Caps mit 5,9% erscheinen sehr hoch, aber die Zahlen täuschen, da sie von den Mittelwerten ohne Berücksichtigung der Standardabweichungen errechnet wurden. Die Abweichungen sind jedoch so stark, daß eine vertrauliche Resorptionsquote von den Daten nicht ermittelt werden kann.

5.2. Resorptionsquoten und Substanzfreisetzungsvermögen der verschiedenen galenischen Zubereitungen

Die in Tab. 10 angegebenen Resorptionsquoten wurden nach dem Dost'schen Prinzip errechnet, wie schon in 4.8 ausführlich berichtet wurde. Von diesem Gesetz geht hervor, daß die Fläche unter der intravenös verabreichten Blutspiegelkurve als 100% Resorption angenommen werden kann und der ermittelte Prozentsatz von dem Verhältnis der Fläche eines nicht intravenös verabreichten Versuches zu der Fläche der iv.Kurve als X% Resorption gilt. In dieser Arbeit wurden von den Mittelwerten der jeweiligen Versuchsreihen die Kurvenflächen und daraufhin die Resorptionsquoten errechnet.

Um das Substanzfreisetzungsvermögen der verschiedenen galenischen Modelle zu beurteilen, wurde die Menge an unveränderten Substanzen in dem Kot der Versuchstiere untersucht. Dabei wurde der Kot über 24 Std. bzw. 48 Std. nach der Substanzverabreichung gesammelt und wie in

Methode 4.4.IV analysiert. Tab. 11 gibt die Ergebnisse von den Bestimmungen der Eupaverin Tablette 1/72, des Eupaverin Retard 49/71, des Eupaverin Retard 3/72 und des Pavabids an. Wegen dem Zeitaufwand wurde der Kot nicht von jedem Tier untersucht, sondern nur von einigen Tieren, um exemplarische Bilanzen zu haben.

5.3. Diskussion der Tierversuche

Die Ergebnisse der Tierversuche lassen sich als gutes Beispiel für die Problematik der Retardherstellung und deren Beurteilung verwenden. In dieser Arbeit wurden 6 langwirkende Präparate miteinander und mit konventionellen Zubereitungen verglichen. Dabei wurde es klar, daß die beiden Substanzen Eupaverin und Papaverin andere pharmakokinetische Eigenschaften aufweisen, obwohl sie in ihrer Wirkung und ihrem Wirkungsmechanismus sehr ähnlich sind.

Durch die in den Kapiteln 3.2., 3.3. und 3.4. schon dargelegten Argumente von Garret (9,10), Levy (17,19), Ritschel (32) und Wagner (42) war es möglich, eine sinnvolle Methode für die Beurteilung eines langwirkenden Präparates zusammenzusetzen.

Von besonderem Interesse ist es, hier nochmal die Kriterien für ein solches Präparat und die allgemeinen Bedingungen für ein Fließgleichgewicht (steady state) im Körper zu erwähnen. Es sei hier als kurze Wiederholung darauf hingewiesen, daß in der Beurteilung der Zubereitungen die Blutspiegelhöhe, die Plateauformation und Gleichmäßigkeit, die biologische Streuung, die Kumulationsgefahr, die biologische Verfügbarkeit und die Abhängigkeit von pharmakologischer Aktivität und Blutspiegelkonzentration zu berücksichtigen sind, um ein erfolgreiches Präparat herzustellen.

Im Falle von Papaverin zeigten sich die zwei Präparate Pavabid und Panergon beinahe gleich in ihren Blutbilanzen. Das ist nicht verwunderlich, da das Pavabid und das Panergon nach dem gleichen Modell konstruiert sind. Ein

lang anhaltendes Plateau des Blutspiegels als Zeichen einer Retardwirkung ließ sich aber für Pavabid und Panergon in Abb. 13 nicht erkennen. Zusätzlich waren die Retardformen enttäuschend im Vergleich zu der reinen Wirksubstanz (Abb. 13), die beim Hund einen in den ersten 8 Std. höheren Blutspiegel als die Retardzubereitungen aufwies. Man könnte sich fragen, warum denn das Pavabid bzw. das Panergon in diesem Resinmembranmodell als langwirkendes Präparat hergestellt wurden, da sie kaum die oben genannten Kriterien dafür erfüllen -viz., der Blutspiegel niedriger als eine normale Tablette ist; die Resorptionsquoten der Retardformen mit 9,1% für Pavabid und 8,6% für Panergon deutlich niedriger als die der Wirksubstanz mit 19,7% liegen, und die Streuung in den Versuchsobjekten für die Retardformen extrem stark waren.

Bei den Eupaverin Retard 49/71 läßt sich im Vergleich mit der 100 mg Tablette und dem Retard 3/72 in Tab. 8 und 9 und Abb. 14 eine deutliche Retardwirkung feststellen. Das nach 2 Std. erschienene Plateau läßt sich ohne erhebliche Schwankung bis 8 Std. nach der Verabreichung mit leichtem Abfall verfolgen. Der weitere Abfall der Blutspiegelkurve von 8 Std. mit $p = 0,48 \pm 0,19$ auf 24 Std. mit $p = 0,41 \pm 0,15$ war allerdings gering. Eine Erklärung dafür kann man nur in der Vermutung suchen, daß Eupaverin ein wesentlich kleineres Verteilungsvolumen besitzt und eine hohe Plasmaproteinbindung einhergeht. Denn diesen erhöhten Blutspiegel von 8 bis 24 Std. als Erfolg der galenischen Zubereitung zuzuschreiben, wäre sicherlich falsch, weil die Verweildauer eines nüchtern applizierten Pharmakons im Magen und Dünndarm mit etwa 6 bis 8 Std. zu rechnen ist (2,42) und in diesem Falle keine experimentellen Hinweise auf eine mögliche enterohepatische Rückresorption aus dem Dickdarm bestehen.

Obwohl es bei manchen einzelnen Versuchen eine leichte enterohepatische Rückresorption zu geben scheint, z.B. deutlich gesehen bei den Pelletpräparationen, ist die Ausscheidung im Kot, gemessen bei verschiedenen Retardformen, nach 24 Std. ein Hinweis darauf, daß eine solche Rückresorption nur von geringer Bedeutung sein kann. Damit wäre es hier unwahrscheinlich nach der Magen-Dünndarm-Passage für eine Substanz aus irgendeiner galenischen Zubereitung in erheblichen Mengen resorbiert zu werden. Vielmehr ist nach intravenöser Verabreichung von Eupaverin ein hoher Blutspiegel von 8 bis 24 Std. ($p_8 = 1,42 \pm 0,03$ und $p_{24} = 1,06 \pm 0,04$) zu beobachten, der gegen eine lange enterale Resorption als Grund für die p_{24} -Werte spricht. Weil nach 32 bis 48 Std. keine Substanz im Blut nachzuweisen ist, muß man annehmen, daß der 8 bis 24 Std. Spiegel von Gewebedepots unterhalten wird, die nach weiteren 8 Std. erschöpft sind.

Das Verteilungsvermögen des Eupaverins scheint im Vergleich zu Papaverin schlechter zu sein. Dies kann man von den p_0 -Werten der intravenösen Verabreichungskurven beider Substanzen gewinnen.

In Abb. 13 und 14 kann man durch Extrapolation der Blutspiegel zum Zeitpunkt t_0 einen $p_0 = 40$ für Eupaverin und $p_0 = 25$ für Papaverin ermitteln. Nach Garret (10) und Wagner (42) wird durch ein solches "Feathering" die Konzentration zu t_0 festgestellt, wenn sich nach einer Injektion sofort ein Fließgleichgewicht zwischen extravasalen Räumen und dem Blut einstellen, wodurch bei Vernachlässigung der Ausscheidungsvorgänge ein p-Wert von 100 erzielt wird. Das heißt, daß Papaverin weit zu Gunsten des Gewebes und Eupaverin zu Gunsten des Blutraumes in Gleichgewicht stehen, oder in anderen Worten, daß Eupaverin ein kleineres Verteilungsvolumen als Papaverin aufweist.

Ein zweiter Grund für die hohen p-Werte nach 24 Std. wird durch eine Proteinbindung erklärt. Axelrod (1) fand bei Papaverin eine Humanproteinbindung nach 20 Std. Dialyse von ca. 70% bei der hier verabreichten Dosis. Eine eigene Untersuchung ermittelte nach der Zentrifugationsmethode zur Bestimmung von Plasmaproteinbindungen, beschrieben von Büttner und Partwich (3), eine sofortige Eupaverin-Humanproteinbindung von ca. 40%. Man kann postulieren, daß wegen dem kleinen Verteilungsraum

und der starken Eiweißbindung die hohe Eupaverin-Blutspiegelkonzentration nach 24 Std. möglich wäre. Da die Tablette 1/72 keinen hohen Spiegel nach dieser Zeit aufwies (Abb. 14), war sie wahrscheinlich für eine zu kurze Zeit in ausreichender Konzentration im Blutraum, um eine hohe Proteinbindung einherzugehen, während bei der Retardform 49/71 durch die langsame Freisetzung eine größere Menge gebunden wurde.

Dieser lang anhaltende Pegel wirft die Frage auf, ob nicht eine mögliche Kumulation stattfindet. Um diese Frage zu beantworten, führte Axelrod (1) ein Studium mit Papaverin durch, wobei er nach 5-tägiger peroraler Verabreichung von 200 mg Papaverin alle 6 Std. eine leichte Kumulation beobachtete. Ähnliche Ergebnisse von einem eigenen Studium wurden bei Eupaverinapplikation nach 4 Tagen beobachtet, während allerdings der leicht akkumulierte Spiegel innerhalb von 2 weiteren Tagen verschwunden war.

Nach 3-tägiger Applikation von Eupaverin Retard 49/71 alle 8 Std. wird ein Substanzblutspiegel mit einem Konzentrationsanstieg von ca. 18% der einmaligen Gabe gegenüber erwartet, der dann bei dieser Höhe aber auch bei weiterer Verabreichung konstant bleibt.

Bisher kann man zusammenfassen, daß nur das Eupaverin Retard 49/71 gegenüber den anderen Eupaverinzubereitungen und den beiden Papaverinretardformen die Bedingungen eines prolonged releasing Medikamentes erfüllt, wenn man es nach der Blutspiegelhöhe, der Plateaugleichmäßigkeit, der Akkumulationsgefahr und der Resorptionsquote im Vergleich zu konventionellen Zubereitungen beurteilt. In unserer Diskussion bleiben noch 3 Fragen zu beantworten, nämlich: ob die Zubereitungen in ihrer Dosierung zumutbar und vorteilhaft sind; wie sich die Papaverin- bzw. Eupaverin-Präparate in ihren Dosierungen zu einer pharmakologischen

Wirkung stehen; und was für eine biologische Verfügbarkeit jedes Präparat aufweist?

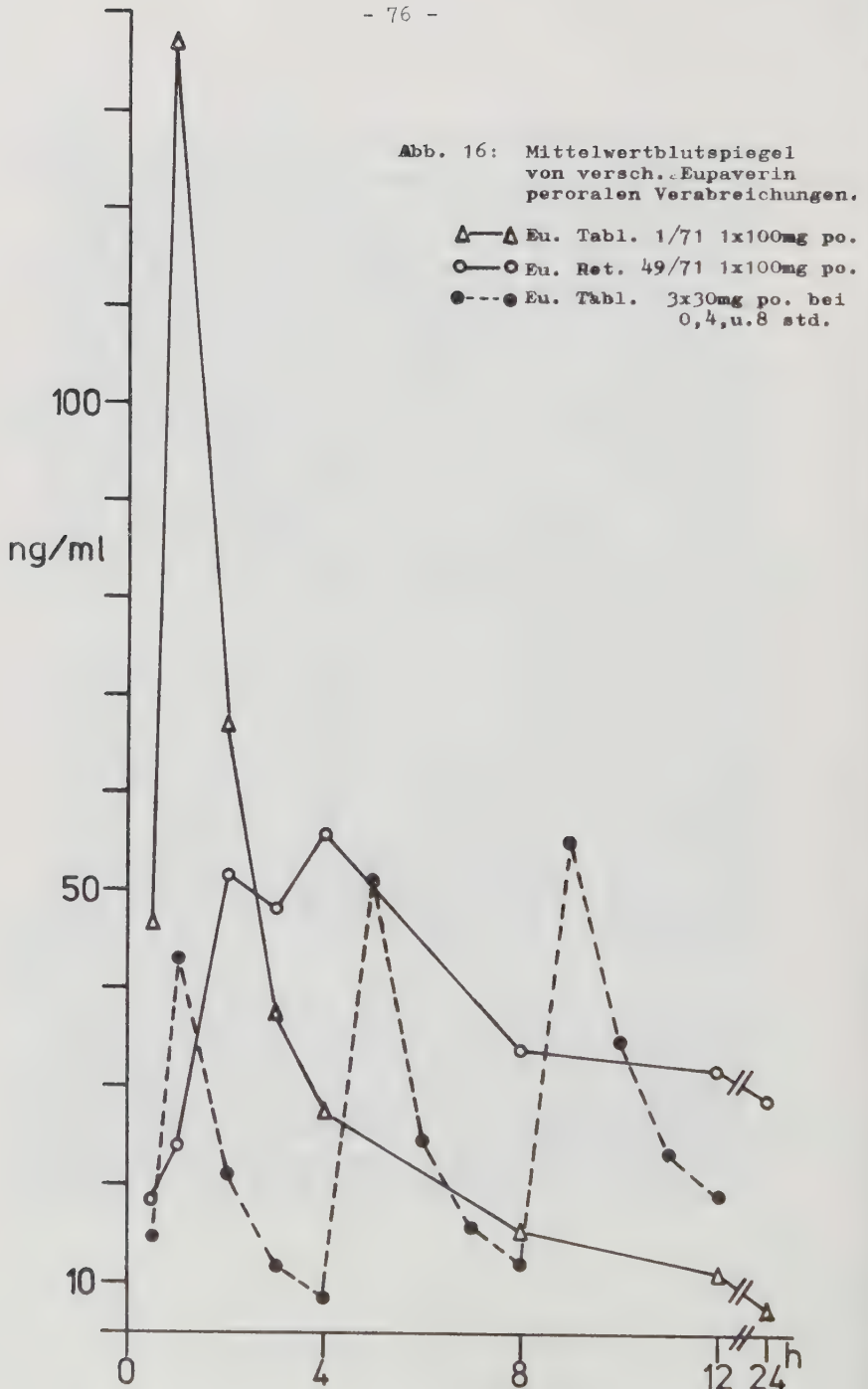
In Bezug auf einen Vorteil der Dosierung und Zubereitung wie aus der Tab. 7 und der Abb. 13 hervorgeht, kann man mindestens beim Hund feststellen, daß die Papaverin-Retardzubereitungen nicht vorteilhaft im Vergleich zu einer Tablette sind. Andererseits ist beim Eupaverin Retard 49/71 gegenüber der Tablette 1/72 ein deutlicher Vorteil zu beobachten. In Abb. 16 sind die Mittelwert-Blutspiegelkonzentrationen in ng/ml von der Tablette 1/72 mit 100 mg, von dem Retard 49/71, sowie eine Konstruktion einer dreimaligen Verabreichung von der im Handel befindlichen 30 mg Eupaverin Tablette dargestellt. Man erkennt von den Kurven, daß die 100 mg Retard nicht nur den gleichen Effekt wie die dreimalig verabreichte 30 mg Tablette hat, sondern in den ersten 8 Std. auch ein deutliches normiertes Plateau erzeugt. Bei den 8 bis 12 Std.-Werten kommen der Kumulationseffekt der Tablette und der Abfall der Retardwirkung zu einem Ausgleich in den Blutbilanzen. (Die Konstruktion der dreimalig verabreichten 30 mg Eupaverin Tablette basiert auf den Ergebnissen des Kumulationsversuches am Beagle-Hund mit 100 mg Eupaverin-Tabletten).

Um eine Beurteilung der Retardzubereitungen auf ein Verhältnis der Blutkonzentration zur pharmakologischen Wirkung zu treffen, wird hier nochmals auf die Diskussion in 2.2. hingewiesen.

Dort wurde festgestellt, daß keine bestimmte minimal wirksame Blutkonzentration bekannt ist und nach der Arbeit von Wolfes und Kreitmair (46) eine Konzentration des Eupaverins von 400 ng/kg und des Papaverins von 1 µg/kg als wirksam beobachtet wurden. Daraufhin kann man annehmen, daß alle hier geprüften Zubereitungen pharmakologisch wirksam sind. Diese Annahme beruht darauf, daß alle Zubereitungen in der therapeutischen anzuwendenden Zeit eine Blutspiegelkonzentration von mehr als 5 ng/ml aufweisen.

Nach Völker (41), Hemmer (12) und Karlsberg (13) tritt eine gefäßdilatierende Wirkung bei den Substanzen sofort nach 150 mg intravenöser Verabreichung auf, aber erst mit 30 Min. wird der Gipfel der Wirkung erreicht, der allerdings für ca. 2 Std. anhält. Dann läßt die Wirkung nach. Es sei nochmals darauf hingewiesen, daß Eupaverin und Papaverin nach intravenöser Verabreichung für die ersten 30 bis 60 Min. extrem schnell vom Blut ins Gewebe einströmen (Abb. 13 und 14) und erst nach 1 Std. fallen die Kurven weniger steil ab. Dies spricht für eine schnelle Sättigung des Gewebes sowohl der Biophase, des Ortes der Rezeptoren. Da die Wirkung länger anhält, gerade während die Substanzen nicht mehr so schnell aus dem Blut strömen, läßt man vermuten, daß die Biophase nicht sehr tief sitzt und leicht gesättigt wird, aber die Substanzen niedrige Rezeptoraffinität besitzen.

Die Substanz-Rezeptoraffinität wird besonders deutlich gemacht durch eine Wirkungs-Dosisabhängigkeitsdarstellung. Miyakaki (24) fand, daß im therapeutischen Bereich steigende Dosierungen von Papaverin eine ziemlich lineare Wirkungssteigerung erzeugen. Marquart (22) zeigte, daß ein S-Kurven-Dosis-Wirkungsverhältnis der Papaverin- bzw. Eupaverin-PDE-Hemmung vorhanden ist. Nach seiner Arbeit wird eine biologische Antwort von ca. 20% PDE-Hemmung bei den hier diskutierten therapeutischen Dosen stattfinden. Da das Eupaverin Retard 49/71 einen etwa um den Faktor 2 höheren Blutspiegel als die Papaverin Retardformen aufweist und eine Wirkungs-Dosisabhängigkeit besteht (obwohl sie in diesem Dosisbereich wahrscheinlich sehr klein ist), kann man postulieren, daß das Eupaverin Retard 49/71 nach den Versuchen an Hunden nicht nur einen höheren Blutspiegel, sondern wahrscheinlich eine stärkere biologische Antwort als die hier diskutierten Papaverinpräparate hervorrufen. Die stärkere biologische Antwort



beruht sowohl auf der Tatsache, daß Eupaverin etwa eine zweimal so starke Wirkung als Papaverin bei der gleichen Dosis verursacht, als auch auf den hier höheren erzeugten Blutspiegel, der eine stärkere PDE-Hemmung als die des Papaverins aufweist, was ein Summationseffekt zwischen der Pharmakologie und der Dosierung erlaubt.

Da Miyakaki (24) beobachtet bei einem 150 ng/ml Substanzspiegel eine signifikante Erhöhung der Blutvolumenströmungszeit und diese Konzentrationen ca. dem Niveau des Eupaverins Retard 49/71 entsprechen, kann man sagen, diese Retardzubereitung ist klinisch bedeutsam. Es wird aber nochmals betont, daß alle Zubereitungen, ob von Papaverin oder Eupaverin, ohne Rücksicht auf die Blutspiegelhöhen bestimmt wirksame Medikamente sind, nur aber ein Unterschied in der Potenz des Eupaverin Retard 49/71 zu den anderen Zubereitungen besteht.

Weil das beste Mittel aber wirkungslos sein kann, wenn es nicht ausreichend in der Dosierungsform in den Magen-Darm-Trakt freigesetzt bzw. resorbiert wird, wurde das Pavabid, das Eupaverin Retard 49/71, das Eupaverin Retard 3/72 und die Eupaverin Tablette 1/72 auf unresorbierte Muttersubstanzen untersucht, die in dem Kot ausgeschieden wurden. Wie aus der Tab. 11 hervorgeht, kann man annehmen, daß die Eupaverin-Tablette 1/72 beinahe 100% resorbiert wird, während bei den anderen Zubereitungen erhebliche Mengen an Substanz unresorbiert durch den Darmtrakt gehen. Das Pavabid zeigte starke Schwankung in der Freisetzung mit einer unresorbierten Menge im Durchschnitt von 42,80 mg bzw. 28,53% der Dosis. Genau so waren das Eupaverin Retard 3/72 mit 28,86% und das Eupaverin Retard 49/71 mit 25,78% auch nicht vollständig resorbiert.

Die breite Schwankung in unresorbierten Mengen des jeweiligen Präparates ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß eine 24 Std. Sammelperiode zu kurz sei, um die gesamte unveränderte Substanz im Kot zu erfassen. Die 3 Werte über 48 Std. zeigen, daß wahrscheinlich die ausgeschiedenen Mengen höher gewesen wären, wenn man bis zu 72 Std. sammeln würde. Die in Tab. 11 angegebenen Ergebnisse sind nicht ausreichend auch mit Hilfe der Blutspiegelkurven mit Sicherheit zu beurteilen, ob das eine oder das andere Zubereitungsmodell effektiver in der Freisetzung sei als die anderen. Es wäre wünschenswert, weitere Versuche in dieser Richtung zu gestalten, um Unterschiede, z.B. zwischen der Eupaverin Retard 49/71- und der Retard 3/72-Herstellung deutlich zu machen.

Nach den Daten in Tab. 11 und den Blutspiegelkurven scheint es, als ob die 49/71 Zubereitung weniger metabolisiert wird als die 3/72 Zubereitung, da von dem einen 25,8% und von dem anderen Modell 28,9% nicht resorbiert wurden. Diese Annahme ist sicherlich falsch, weil die Metabolisierung der Substanzen ein Konstant ist. Hier wäre eher zu erwarten, daß das Eupaverin Retard 49/71 mit seiner 0,5% CAP-Lackierung mehr Substanz freiläßt als das Eupaverin-Retard 3/72 mit seiner 20% CAP-Hülle. Um diese Postulation zu bestätigen, müssen weitere Versuche durchgeführt werden.

Um das Resorptionsvermögen der Zubereitungen zu ermitteln, wurde das in 4.8 ausführlich beschriebene Prinzip der korrespondierenden Flächen nach DOST angewandt. Wenn man die Ergebnisse in Tab. 10 betrachtet, ist es auffallend, wie niedrig die Werte sind. Dieses ist verwunderlich, weil man theoretisch annehmen könnte, daß die hydrochlorierten Substanzen im schwach alkalischen Milieu des Dünndarms sicher zum größten Teil undissoziiert vorliegen und nach der Theorie der non ionic Diffusion wahrscheinlich gut resorbiert werden müßten.

Axelrod (1) untersuchte die Resorption und Metabolisierung des Papaverins an verschiedenen Tieren und an Menschen mit dem Ergebnis, daß das Papaverin vollständig aus dem Darm resorbiert wurde und ca. 70% des Papaverins als phenolische Metaboliten ausgeschieden wurden, während weniger als 1% als reine Muttersubstanz in Urin und Kot gefunden wurden. Belpaire (2) berichtete über eine 85% Tritium-Wiederfindungsrate bei markiertem Papaverin in Ratten. Weiterhin beobachtete er, daß weniger als 0,1% des ausgeschiedenen Materials reines Papaverin war, und aufgrund der Ergebnisse beschloß er, daß auch kein wichtiger enterohepatischer Kreislaufanteil vorhanden war. Man muß darauf hinweisen, daß seine Arbeit die Wiederfindung von Radioaktivität aber nicht die reine Substanz beschreibt und daher die Ergebnisse auf eine hohe Metabolisierung hindeuten, aber keine Aussage über die Menge reiner Substanz im Körper machen.

Die beiden Arbeiten von Axelrod (1) und Belpaire (2) zeigen, daß Papaverin schnell und vollständig aus dem Magen-Darm-Trakt resorbiert wird, aber sehr schnell und vollständig metabolisiert wird. Dieses führt zu einer Erklärung der niedrigen Resorptionsquoten durch schnelle Metabolisierung der Substanzen in der Leber.

Tatsächlich fand Axelrod (1) nach 1 Std. ca. 25% der gegebenen Dosis in der Leber und nach 2 Std. 90% der Dosis schon von der Leber metabolisiert wurde. Belpaire (2) fand ca. 70% in Gallenflüssigkeiten innerhalb 6 Std. nach intravenöser oder intramuskulärer Verabreichung, wobei 25% in den ersten 30 Min. gesammelt wurden.

Obwohl keine markierten Studien über die Resorption von Eupaverin bekannt sind, kann man anhand der Tab. 11 sagen, daß so gut wie 100% Eupaverin Tablette resorbiert wurden, da in 3 Fällen durchschnittlich nur 1,94 mg reines Eupaverin im Kot gefunden wurden.

Weil die Halbwertszeit des Eupaverins ungefähr gleich wie die des Papaverins ist (ca. 100 Min.), kann man annehmen, daß beide Substanzen stark und schnell metabolisiert werden. Damit wäre eine Anwendung des DOST'schen Gesetzes im Prinzip nicht zuzulassen, weil die Berechnung voraussetzt, wie in 4.8.III ausführlich berichtet wurde, daß die

Metabolisierung auf allen Applikationswegen gleich sein muß. Im Falle von Papaverin bzw. Eupaverin vertritt die intravenöse Dosis tatsächlich eine 100%ige Verabreichung der Muttersubstanz, während die peroralen Dosen durch eine Leberpassage erst als defakto Arzneistoffmenge in das Blut gelangen. Dennoch bietet das Gesetz eine Möglichkeit, die biologische Verfügbarkeit der Substanzen zu beurteilen, weil es nach dem Vergleich der Flächen von intravenösen und peroralen Verabreichungen die Menge an unveränderter Substanz im Blut ermittelt und damit die Werte in Tab. 10 die tatsächliche Bioavailabilität der Zubereitungen und nicht die Resorptionsquoten nach Dost sind. Um die echten Resorptionsquoten zu messen, müßte man mit der hier angewandten Methode radioaktive Substanzen heranziehen, wobei man dann aber nicht mehr zwischen Metaboliten und wirksamer Muttersubstanz unterscheiden könnte.

Es ist hier wohl möglich, daß die Substanzen 100%ig resorbiert werden, aber wegen der starken Metabolisierung erst als ein Bruchteil der Muttersubstanzmenge im Zentral-kompartiment Blut zur Verfügung stehen. Abgesehen von den schon diskutierten fraglichen Substanzfreisetzungsvermögen der verschiedenen Modelle kann man sagen, daß das Eupaverin-Retard 49/71 mit 9,7% der applizierten Dosis gegenüber 3,9% bei dem Eupaverin Retard 3/72, 12,5% bei der Pellet-form *3/73,5, 9% bei den NAYSCaps* und 5,8% bei der Eupaverin Tablette 1/72 die höchste biologische Verfügbarkeit aufweist. Im Vergleich seien die beiden Papaverinpräparate Pavabid mit 9,1% und Panergon mit 8,6% der applizierten Dosen, abgesehen von den schon dargelegten Einschränkungen, annähernd gleich in ihrer Bioavailabilität wie das Eupaverin Retard 49/71.

* Wie auf S. 68 erklärt, fallen diese Quoten außer Betracht.

6. Humanversuche mit Papaverin und Eupaverin

Nachdem die Ergebnisse der Tierversuche bekannt waren, wurde ein Versuchsprogramm an freiwilligen Humanprobanden durchgeführt, um das Eupaverin (MERCK) mit dem Papaverin-Präparat Pavabid (MARION LAB.) zu vergleichen. Das Eupaverin wurde als Tablette 1/72 retard 49/71 und intravenös verabreicht, während Papaverin nur als Retard (Pavabid) appliziert wurde.

6.1. Probanden und Substanzen

Sieben klinisch gesunde Menschen wurden für das Studium ausgesucht und wie folgt eingeteilt: 3 Probanden bekamen jeweils 200 mg Eupaverin Retard 49/71, 2 jeweils 200 mg Eupaverin Tablette 1/72, einer nahm 300 mg Pavabid ein und einer bekam 60 mg Eupaverin intravenös. Zusätzlich sind ein Papaverin Retardversuch aus der Literatur mit vier Humanprobanden und ein intravenöser Papaverinversuch zum Vergleich angegeben (8,1).

6.2. Versuchsbedingungen

Jeder Proband nahm das entsprechende orale Präparat im nüchternen Zustand mit etwas Wasser ein. Am Untersuchungstag aßen sie alle leichte Kost und bewegten sich ohne große Anstrengung. Bei jeder Sammelperiode wurden 10 ml natives Blut abgenommen, von dem durch Zentrifugation Plasma gewonnen und nach entsprechender Markierung bis zur Analyse eingefroren wurde. Die klinischen Daten der Probanden sind von Tab. 12 zu entnehmen. Die Blutsammelperioden sind bei den Ergebnissen in Tab. 13 zu betrachten. Bei stationären Probanden wurden vorher SGOT, SGPT, Cholinesterase, Australia Antigen, Kreatinin und Kreatinin-clearance, Harnsäure, Na^+ und K^+ kontrolliert, um mögliche hepatische und renale Malfunktionen zu entdecken.

6.3. Ergebnisse der Humanversuche

Die Ergebnisse sind in ng/ml und als p-Werte ($\frac{\% \text{Dosis}}{\text{Liter}} \cdot \text{Körpergewicht}$) in Tab. 13 und wieder in Form von p-Wertkurven in Abb. 16 dargestellt. Die biologischen Verfügbarkeiten der Eupaverinzubereitungen wurden nach dem schon ausführlich diskutierten DOST'schen Gesetz errechnet und sind auch in Tab. 13 angegeben.

Tabelle 12: Klinische Daten der Probanden

Proband	Geschlecht		Alter	Gewicht	Gesundheitszustand
I	J.K.	m	70 J.	85,0 kg	Gut. Laborwerte normal
II	A.T.	m	55 J.	55,0 kg	Normal
III	U.G.	w	26 J.	60,0 kg	Normal
IV	R.S.	m	25 J.	74,0 kg	Normal
V	M.C.	w	38 J.	57,3 kg	Normal
VI	P.S.	m	27 J.	66,0 kg	Normal
VII	B.S.	w	21 J.	60,5 kg	Normal
VIII	Literaturangabe über 4 Probanden mit mittlerem Gewicht von 76,5 kg und alle in gutem Gesundheitszustand (8).				
IX	Literaturangabe über eine intravenöse Verabreichung von 3 mg/kg Papaverin verfolgt über 6 Std. (1).				

6.4. Verlauf der norminierten Humanblutspiegelkurven

Eupaverin iv. 60 mg

Die intravenöse Blutspiegelbilanz ergab eine scharf abfallende Kurve, die erst ab 1 Std. flacher wurde. Ein lang anhaltendes Plateau von 8 Std. mit $p_8 = 4,25$ bis 24 Std. mit $p_{24} = 1,96$ war anstatt eines zu erwartenden weiteren Abfalls auffallend. Durch "Feathering" erhält

man eine $p_0 = \text{ca. } 20$, der um den Faktor $0,5$ niedriger als der $p_0 = 40$ des Papaverins ist (Abb. 16). (Es sei hier nochmals hingewiesen, daß der p_0 -Wert als Vergleichsgröße für Verteilungsräume und Resorptionsvermögen, wie in 4.8. berichtet wurde, dienen kann). Von der Kurve lassen sich 3 Eliminationshalbwertszeiten ablesen: 0 bis 1 Std. mit ca. 25 Min., von 1 bis 8 Std. mit 2 1/2 Std. und von 8 bis 24 Std. mit 20 Std..

Eupaverin Tablette 1/72, 2 x 100 mg

2 Probanden wurde das Präparat peroral zugeführt und der Verlauf des Blutspiegels über 24 Std. verfolgt. Die gewonnenen Kurven waren äußerst ähnlich und erwiesen, daß die Substanz innerhalb 30 Min. im Blut erschien und nach 1 Std. ein Maximum von $p_1 = 31,9$ erreichten. Wie aus der Kurve in Abb. 16 ersichtlich ist, sind die gesamten Blutspiegelkonzentrationen der Tablette 1/72 um einiges höher als die der Retardform 49/71. Ein deutliches hohes Plateau von 8 bis 24 Std. ist hier auch zu beobachten. Von den Kurven lassen sich die folgenden Eliminationshalbwertszeiten ablesen: Von 1 bis 2 Std. mit 30 Min., von 2 bis 8 Std. mit 3 Std. und von 8 bis 24 Std. mit 24 Std.. Damit waren die Eliminationszeiten annähernd gleich wie die der iv-Kurve.

Eupaverin Retard 49/71, 2 x 100 mg

Die Eupaverin Retardkurven zeigen ein sehr einheitliches Retardwirkungsplateau, das nach 1 Std. seinen Gipfel von $60,2 \text{ ng/ml}$ bzw. $p_1 = 193$ erreicht und dann langsam von 1 bis 8 Std. auf $29,3 \text{ ng/ml}$ bzw. $p_8 = 0,93$ abfällt. Von 8 bis 24 Std. ist nur ein kleiner Abfall von $p_8 = 0,93$ auf $p_{24} = 0,59$ zu erkennen. Obwohl die Blutspiegelkonzentrationen des Retard 49/71 unter denen der Tablette 1/72 liegen, waren sie deutlich höher als

die entsprechenden Kurven der Tierversuche. Die biologische Verfügbarkeit des langwirkenden Mittels mit 13,5% der applizierten Dosis erwies sich als bedeutend niedriger als die von der Tablette 1/72 mit 45,7%.

Papaverin-Zubereitungen:

Wie schon erwähnt, sind 2 aus der Literatur bekannte Versuche mit einer Papaverin Resinmembranzubereitung (8) und einer 3 mg/kg intravenösen Verabreichung (1) angegeben. Nur ein Pavabid Pellet wurde verabreicht, um eine Vergleichsmöglichkeit zwischen den literarischen und experimentellen Werten zu schaffen.

Das Pavabid Pellet wurde in einer 300 mg (2 x 150 mg) Dosis verabreicht. Aus der davon entstandenen Kurve ist zu beobachten, daß die Substanz nach 30 Min. schon im Blut nachweisbar war, aber erst nach 2 Std. ein Maximum von $p_2 = 7,2$ erreichte und bald danach wieder auf einen p-Wert von 2 abfiel, der dann bis 24 Std. anhielt. Die Form dieser Kurve ist sehr ähnlich mit der Mittelwertskurve des NYSCO Papaverinretards als Versuchsobjekt VIII angegeben.

Die von Axelrod (1) entstandene intravenöse Kurve aus einem Versuch mit 3 mg/kg Papaverin verfolgt über 6 Std. zeigt einen ähnlichen Verlauf wie die intravenöse Eupaverinkurve. Da die intravenöse Papaverinkurve nur bis 6 Std. verfolgt wurde, ist eine Berechnung der Resorptionsquoten bzw., wie diskutiert, die hier zu nennenden Bioavavailabilitäten der Papaverinzubereitungen unmöglich. Weil aber die iv.-Kurve und die Blutspiegel der Retardformen bereits nach 2 bzw. 4 Std. sich einander nähern, ist anzunehmen, daß die biologischen Verfügbarkeiten hoch wären.

Tabelle 13: Ergebnisse der Humanversuche:

Eupaverin i.v. 60 mg			Eupaverin Tab. 1/72 2x100mg			Eupaverin ret. 49/72 2x100mg				
Std.	Prob. I ng/ml	p	Prob. II ng/ml	p	Prob. III ng/ml	p	Prob. IV ng/ml	p	Prob. V ng/ml	p
0,0	0,0	--	0,0	--	0,0	--	0,0	--	0,0	--
0,12	833	118,05	--	--	--	--	--	--	--	--
0,5	265	37,57	235	11,71	317	9,52	--	--	43,5	1,24
1,0	106	15,05	675	33,65	1003	30,10	--	--	66,0	1,89
1,5	--	--	--	--	--	--	80,3	2,97	--	--
2,0	90	12,80	117	5,83	259	7,79	--	--	43,4	1,24
4,0	50	7,08	81	4,01	116	3,48	46,0	1,70	17,2	0,49
8,0	30	4,25	33	1,65	47	1,40	19,9	0,74	41,6	1,19
24,0	13,8	1,96	21	1,05	34	1,03	15,9	0,59	14,9	0,43

Eupaverin ret. 49/71 2x100mg			Pavabid 2x150mg		NYSCO-Papa ⁺ 2x150mg		Papaverin i.v. ⁺ 3mg/kg	
Std.	Prob. VI ng/ml	p	Prob. VII ng/ml	p	Probe VIII ng/ml	p	Probe IX ng/ml	p
0,0	0,0	--	0,0	--	0,0	--	0,0	--
0,5	24,7	0,82	18,4	0,37	--	--	1900	63,3
1,0	28,3	0,93	20,4	0,41	--	--	960	32,0
1,5	--	--	--	--	48	2,45	--	--
2,0	76,7	2,53	355,7	7,17	72	3,67	500	16,7
4,0	48,8	1,61	56,2	1,14	159	8,11	200	6,7
8,0	26,5	0,87	104,3	2,10	56	4,89	--	--
12,0	--	--	--	--	75	3,41	--	--
24,0	22,7	0,75	50,9	1,03	57	2,91	--	--

Die Bioavailabilität der versch. Zubereitungen:

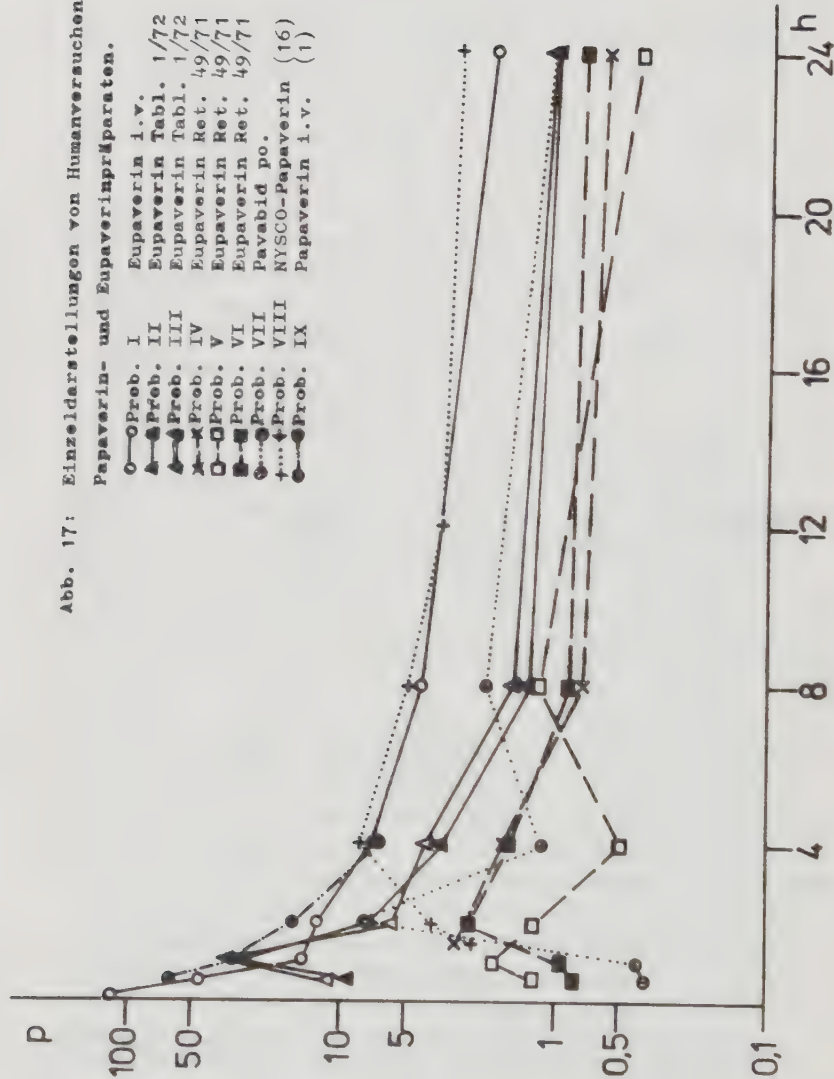
Eupaverin Tabl. 1/72 45,7%

Eupaverin ret. 49/71 13,5%

Wegen des kurzen Verlaufs der Papaverin i.v. Kurve ist eine Beurteilung der biologischen Verfügbarkeit des Pavabids und des NYSCO-Papa unmöglich.

⁺Die Ergebnisse von Probanden VIII sind aus Literaturstelle 16 und die Ergebnisse von Probanden IX aus Literaturstelle 1 entnommen.

Abb. 17: Einzeldarstellungen von Humanversuchen mit Papaverin- und Eupaverinpräparaten.



6.5. Diskussion der Humanversuche

Aus den Humanversuchen ist deutlich festzustellen, daß alle Ergebnisse von den Versuchen an Beagle-Hunden nicht direkt übertragbar auf den Menschen sind. Überraschend waren die hohen p -Werte im Vergleich zu den Tieren, die Ergebnisse der Tablette 1/72 (die in den ersten 8 Std. deutlich höhere Werte als die Retardform aufwies) und die absolut höheren p -Werte der Papaverin-oral-Versuche im Vergleich zu den Eupaverinbilanzen. Das Eupaverin wird beim Menschen viel besser resorbiert, aber zu gleicher Geschwindigkeit aus dem Blut eliminiert wie beim Hund. Die allgemeinen hohen p -Werte der peroralen Versuche von 0 - 8 Std. deuten auf die höhere Bioavaiabilität der Pharmaka beim Menschen hin, während die hohe Eiweißbindung und der beschränkte Verteilungsvolumeneffekt die von 8 bis 24 Std. hohen p -Werte verursachen.

Wie erwähnt, wurden durch Extrapolation der Blutspiegelkurve zum Zeitpunkt t_0 der p_0 -Wert des Eupaverins mit 20 und der p_0 des Papaverins mit 40 festgestellt. Daraus kann man schließen, daß im Vergleich zu den Tieren das Eupaverin beim Menschen ein viel größeres Verteilungsvolumen hat, während das Papaverin beim Mensch und Hunden das gleiche Verteilungsvolumen aufweist. Die Gewebsaffinität der Substanzen ist ähnlich wie beim Hund, nämlich daß Papaverin sehr schnell und quantitativ ins Gewebe abdiffundiert, soweit man das von dem 6-Std.-Verlauf der Papaverin iv.-Kurve beurteilen kann, aber das Eupaverin noch besser gewebszugänglich ist.

Die höheren biologischen Verfügbarkeiten der Eupaverinpräparate plädieren für eine wahrscheinlich vollständigere Substanzfreisetzung und daraufhin folgende Resorption, als bei Tierversuchen beobachtet wurden. Weitere Humanversuche sind nötig, um eine bessere Aussage über die biologische Streuung und die Resorptionsquoten der Präparate zu ermöglichen.

Auffallend ist der hohe Spiegel des Pavabids bzw. NYSCO Papaverinkollektivs, der ca. um den Faktor 2 höher liegt als die Eupaverin Retardkurven. Damit wäre mindestens im Zentralkompartiment Blut eine doppelt so hohe Konzentration von Papaverin verglichen mit Eupaverin, die vielleicht den stärkeren Wirkungsgrad des Eupaverins bei gleichen Dosen aufhebt.

Weiterhin auffallend ist die hohe Gewebszugänglichkeit des Eupaverins beim Menschen den Tierversuchen gegenüber. Das läßt vermuten, daß der niedrige Retardspiegel durch schnelle Depotsättigung verursacht ist. Weitere Untersuchungen vor allem über längere Zeit (32 bis 48 Std. bzw. Kumulationsversuche) könnten klären, ob der Spiegel durch Depots unterhalten wird oder nicht. Beim Papaverin scheint das nicht der Fall, da keine wesentliche Kumulation stattfindet (1), woraus man schließen kann, daß die Blutbilanz vom Papaverin einen direkten Spiegel der defakto Mutter-substanzresorption darstellt. Von besonderem Interesse wäre hier die Aufklärung für den hohen Eupaverintabletten-spiegel verglichen mit der Retardzubereitung, da wie bei den Papaverinhundeversuchen die Frage auftaucht, ob die Retardform hier nützlich ist. Aussagen zu machen wäre aber aufgrund dieser Untersuchungen nicht gerechtfertigt.

Um eine bessere Erklärung für das pharmakologische Verhalten der verschiedenen Zubereitungen am Menschen zu formulieren, müssen daher weitere Versuchsprogramme gestaltet werden, da die hier ermittelten Beispiele nicht ein ausreichendes Kollektiv für diesen Zweck darstellen. Die in der Diskussion der Tierversuche dargelegten Grundüberlegungen gelten jedoch immer noch als Erklärung für den Verlauf der Blutspiegelbilanzen von den Humanversuchen.

Die Frage über das beste Mittel für klinische Anwendung kann nicht ohne Einschränkung beantwortet werden. Aber

wie aus den Ergebnissen hervorgeht, scheinen Pavabid bzw. NYSCO Papaverin Pellets effektive Arzneien zu sein, die anhand der Blutspiegelkonzentrationen gemessen genauso wirksam sein können wie die hier geprüften Eupaverinzubereitungen.

7. Zusammenfassung

Um die pharmakokinetischen Eigenschaften von verschiedenen galenischen Zubereitungen des Papaverins bzw. Eupaverins festzustellen, wurden 6 Präparate mit Langzeitwirkung in zwei verschiedenen Herstellungsmodellen - das Pavabid, das Panergon, das Eupaverin 3/73 und das NYSCO Cap in Pelletform und das Eupaverin Retard 49/71 und das Eupaverin Retard 3/72 in Einbettungsform - und 2 konventionelle Zubereitungen der Verbindung in Tabletten- und pro injectione-Formen mit Hilfe von Blutspiegelbilanzen an Beagle-Hunden untersucht und verglichen.

Die Kriterien für die Überprüfung von Retardformen, sowie die zutreffenden pharmakologischen und pharmakokinetischen Überlegungen wurden dargelegt und diskutiert. Für die Bestimmung von Muttersubstanzen im Blut wurde eine gas-liquidchromatographische Analyse entwickelt, die durch das Prinzip des internen Standards zur Probe Verhältnis die Ermittlung experimenteller Ergebnisse mit guter Reproduzierbarkeit und Empfindlichkeit erlaubte. Eine Diskussion zur Meßmethode und deren Entstehung wurde abgehandelt.

Nach dem Abschluß von den Tierversuchen wurden Humanversuche durchgeführt, um die Übertragbarkeit der Tierergebnisse von einigen Präparaten mit prolongierender Wirkung zu überprüfen.

Die wichtigsten Ergebnisse können wie folgt zusammengestellt werden:

A) Aus den Tierversuchen:

1. Das Eupaverin Retard 49/71 zeigte in Blutbilanzen von unveränderter Muttersubstanz im Vergleich zu Eupaverin Retard 3/72, Eupaverin Pellet 3/73 und NYSCaps eine deutliche sichtbare prolongierende Wirkung. Die anderen Eupaverinzubereitungen bewiesen sich nach den hier ermittelten Ergebnissen als weniger geeignet in Hinsicht auf die Blutspiegelkonzentrationen und den Retardeffekt.

2. Die Papaverin Retardzubereitungen lagen deutlich in ihren Blutspiegelhöhen unter dem Niveau der konventionellen Tabletten und zeigten erhebliche Streuungen in ihren Blutbilanzkurven. Daraus muß man die Vorteile solcher Modelle in Frage stellen, wenn man die beiden hier vorgelegten Kriterien mustert.

3. Mit 9,7% der applizierten Dosis weist das Eupaverin Retard 49/71 die höchste biologische Verfügbarkeit der untersuchten Präparate auf. Das Eupaverin Retard 3/72 mit 3,9% und die Eupaverin Tablette 1/72 mit 5,8% der applizierten Dosis lagen wesentlich niedriger. Das Eupaverin Pellet 3/73 mit 12,5% und das Eupaverin NYSCO Cap mit 5,9% der applizierten Dosis waren vergleichsweise hoch, aber wegen der starken Streuung der Einzelversuche sind die Ergebnisse nur bedingt zu werten.

4. Die beiden Papaverinpräparate Pavabid mit 9,1% und Panergon mit 8,6% waren annähernd gleich in ihrer Bio-availabilität wie das Eupaverin Retard 49/71.

5. Auffallend waren die hohen 8 bis 24 Std.-Blutspiegelwerte von verschiedenen Präparaten. Die hohen Eiweißbindungen der Substanzen, die möglicherweise verschiedenen Gewebsaffinitäten sowie die unterschiedlichen Verteilungsvolumina und eine enterohepatische Rückresorption wurden als Erklärung für dieses Phänomen diskutiert.

6. Aus einer Untersuchung an im Kot befindlichen Mengen von unresorbierten Muttersubstanzen der Retardmodelle geht hervor, daß die Freisetzungsvermögen der verschiedenen Zubereitungen nicht 100%ig seien. Weil diese Untersuchungen aber auf einer wahrscheinlich zu kurzen Kotsammelperiode erfolgten, kann keine definitive Aussage gemacht werden.

7. Von wiederholten Verabreichungen des Eupaverins konnte keine bemerkenswerte Kumulationsgefahr, weder in der Tablettenform noch in der Retardform festgestellt werden. Aus der Literatur (1) ist ein ähnliches Ergebnis von Papaverinversuchen bekannt.

B) Aus den Humanversuchen:

1. Entgegen den Ergebnissen der Tierversuche zeigte das Eupaverin Retard 49/71 niedrigere Konzentrationen in seinem ganzen Blutspiegelverlauf als die konventionelle Tablette 1/72.

2. Obwohl das Eupaverin Retard 49/71 ein konstanteres Substanzplateau als die Papaverinpräparate im Blutspiegelbild aufwies, lagen die experimentell gewonnenen und die literarischen Papaverinretardwerte um den Faktor 0,5 höher als die Eupaverin Retard 49/71 Konzentrationen.

3. Die biologische Verfügbarkeit der Zubereitungen schien bei Menschen höher als beim Hund zu sein, aber

weitere Versuche sind notwendig, um eine definitive Aussage zu machen.

Weiterhin wurde die Beteiligung des Verteilungsvolumens, der Eiweißbindung und des Substanzfreisetzungsvermögens der verschiedenen galenischen Herstellungen an deren Beurteilung diskutiert.

8. Literatur

1. Axelrod, J., R. Shofer, J. K. Inscoc, W. King and A. Sjoerdsma: The Fate of Papaverine in Man and Other Mammals, J. Pharm. u. Exp. Therap., 124, No. 1: 8051, 1958.
2. Belpaire, F. M. a. M. G. Bogaert: The Excretion of ³H-Papaverine in the Rat, Biochem. Pharmacol. 22: 59, 1973.
3. Büttner, H., F. Portwich: Bestimmung der Bindung von Sulfonamiden an Serumweiß mit der Ultrazentrifuge, Arzneimittelforschung, 12: 1133, 1961.
4. Carpenedo, F., G. C. Toson, M. Furanut, a. M. Ferrari: Effects of Papaverine and Eupaverine on Calcium Uptake by Isolated Sarcoplasmic Vesicles, J. Pharm. Pharmacol., 23, Vol. 7: 502, 1971.
5. DOST, F. H.: Grundlagen der Pharmakokinetik, 2. Ed., Georg Thieme-Verlag, Stuttgart 1958.
6. Dunlop, E.: Chronic Cerebral-Vascular Insufficiency Treated with Papaverine, J. Am. Geriatric Soc. 16, No. 3: 343, 1968.
7. Ferrari, M., F. Carpenedo: On the Mechanism of Action of Some Myolytic Agents on Depolarized Guinea Pigs taenia Coli, Arch. Intern. Pharmacodyn., 174, 1: 223, 1968.
8. Food and Drug Research Lab.: A Study of Papaverine in Human Plasma, Massepeth, New York 11378, July 17, 1969.
9. Garret, E.: Pharmacokinetics and their Clinical Significance, Int. Zeitschrift f. Klin. Pharmacol., Therap. u. Toxikol. 23: 851, 1971.
10. Garret E.: The Physiochemical and Pharmacokinetic Bases for the Biopharmaceutical Evaluation of Drug Biological Availability in Pharmaceutical Formation, Acta Pharmacol. et Toxicol. 29, Suppl. 3: 1, 1971.
11. Hauschild, F.: Pharmakologie und Grundlagen der Toxikologie, Leipzig 3. Aufl., S. 1056, 1961.
12. Hemmer, R.: Gibt es eine medikamentöse Beeinflussung der Hirndurchblutung durch iv. Applikation? J. Clin. Invest. 31: 111, 1952.
13. Karlsberg, P., H. W. Elliot, J. E. Adams: Effects of Various Pharmacologic Agents on Cerebral Arteries, Neurology 13: 772, 1963.
14. Kukowetz, W. R., G. Pösch u. H. Juan: Cyclic Phosphodiesterase Activity in Myocardial Muscle and Coronary Vessels Fourth Int. Congress on Pharm. Abstracts, p. 270, 1969.
15. Kuschinsky, G. u. H. Lüllmann: Lehrbuch f. Pharmakologie, Thieme Verlag, 4. Aufl., S. 39, 1970.

16. LaBrecque, D.C.: Papaverine HCl as Therapy for Mentally Confused Geriatric Patients, *Cur. Thera. Research* 8:106, 1966.
17. Levy, G.: Oral Prolonged Release Pharmaceuticals, *J. Am. Phar. Ass.* 1:17, 1964.
18. Levy, G., J.M. Antkowiak, J.A. Prokna, D.C. White: Factors on Dissolution Rate of the Active Ingredients: Granule Size, Starch Concentration and Compressure Pressure, *J. Pharm. Sci.* 52:1047, 1963.
19. Levy, G. a. E. Nelson: Pharmaceutical Formation and Therapeutical Efficiency, *JAMA* 177:689, 1961.
20. Marion Lab. Inc.: Pavabid Information in Monograph Form for Hospital Staff Members and Pharmacy and Therapeutic Committee Members, Kansas City, Missouri, 1968.
21. Markwardt, F.: Über die Beeinflussung der Thrombogenese durch medikamentöse Blockade der Thrombozytenfunktion, *Dt. Gesundheitswesen* 22:923, 1967.
22. Markwardt, F., A. Hoffmann: Effects of Papaverin Derivates on Cyclic AMP Phosphodiesterase of Human Platelets, *Biochem. Pharmacol.* 19:2519, 1970.
23. Marx, R.: Die Thrombozytenfunktion und ihre Bedeutung für den Haemostasemechanismus, *Therapiewoche* 18 Nr. 47:2103, 1968.
24. Miyakaki, M.: Measurement of Cerebral Blood Flow by Ultrasonic Doppler Technique, *Jap. Circul. Jour.* 30:1203, 1966.
25. O'Dea, R.F., M.K. Haddox, N.D. Goldberg: Clinic Analysis of a Soluble Rat Brain Cyclic Nucleotide Phosphodiesterase, *Fed. Proc.* 29:473, 1970.
26. Pal, J.: Spasmolytische Wirkung von Papaverin, *Wiener Klin. Wschr.* 23:1049, 1899.
27. Pal, J.: Papaverin, *Mün. Med. Wschr.* 3:2364, 1913.
28. Pal, J.: Papaverin und Eupaverin, *Dtsch. Med. Wschr.* 40:2177, 1930.
29. Pal, J.: Papaverin und Eupaverin, *Dtsch. Med. Wschr.* 56:1702, 1930.
30. Poech, G.: Assay of Phosphodiesterase with Radioactively Labeled Cyclic 3'-5'AMP as Substrate, *Arch. Pharmacol.* 268, Nr. 3:272, 1971.
31. Redman, G.D., J.E. Christian, G.L. Sperandio: The Influence of Some Suspending Agents on the Release of a Soluble Medication from Solution, *J. Am. Pharm. Ass.* 4:98, 1960.
32. Ritschel, W.: Retard Tabletten, *Pharma Int.* 3:1, 1971.

33. Schröckjadel, H. u. K. Waltiner: Eupaverin-Wirkung auf den Blutdruck beim Menschen, Ztschr.f.Kreislauf-forschung 9/10:233, 1948.
34. Shenkin, H.: Effects of Various Drugs upon Cerebral Circulation and Metabolism of Man, J.Appl.Physiol. 3:465, 1951.
35. Stern, F.H.: Management of Chronic Brain Syndrom, J.Am.Geriatrics Soc. 13:29, 1965.
36. Stern, F.H.: Leg Cramps in Geriatric Diabetes with Peripheral Vascular Ischämie, J.Am.Ger.Soc. 14:609, 1966.
37. Stern, F.H.: Further Evaluation of Papaverine for Peripheral Vascular Ischämie, J.Am.Ger.Soc. 15:386, 1967.
38. Stern, F.H.: Management of Chronic Brain Syndroms Secondary to Cerebral Arteriosclerose, J.Am.Ger. Soc. 18:507, 1970.
39. Tibbs, E.: Sustained Release Papaverine in Pheripheral Ischämie, Southern Med. Journ. 62:875, 1965.
40. Trinier, L., Y.Vulliemonz, I.Schartz, G.G.Nahas: Cyclic Phosphodiesterase Activity and the Action of Papaverine, Biochem. a. Biophys. Res.Comm. 40:64, 1970.
41. Völker, R.: Die Konservative Behandlung peripherer Arteriopathien, Ärztl. Forschung 4:179, 1965.
42. Wagner, J.G.: Biopharmaceutics and Relevant Pharmacokinetics, Drug Intelligence Publ. Ch. 22, 1971.
43. Wagner, J.G. a. E.Nelson: Kinetic Analysis of Blood Levels and Urinary Excretion in the Absorptive Phase after Single Dosis of Drug, J.Pharm.Sci. 53:1392, 1964.
44. Wagner, J.G. a. E.Nelson: Percent Absorbed Time Plots derived from Bloodlevel and or Urinary Excretion Data, J.Pharm.Sci. 52:610, 1963.
45. Wissenschaftliche Tabellen, J.R. Geigy AG, Basel 7. Aufl. 1968.
46. Wolfes, D., A.Dobrowsky, H.Kreitmair: Synthetische Basen von Typus des Papaverins, E. Merck Jahresbericht 1930, ref. Dtsch.Med.Wschr. 56: 1703, 1930.
47. Persönliche Communication mit der Firma Merck Darmstadt.

Herrn Professor Dr. med. H.J. K a r l spreche ich
meinen ganz besonderen Dank aus. Er überließ mir das
Thema dieser Arbeit und unterstützte mich bei ihrer
Abfassung.

Herrn Professor Dr. med. H. S c h w i e g k möchte
ich für die Übernahme des Koreferates danken.

Bei Herrn Dr. rer. nat. A. Garbe, Fa. E. MERCK, Darmstadt,
möchte ich mich für die Benutzung von Laboratorien und
Versuchshunden ganz besonders bedanken.

Lebenslauf

Am 5. Februar 1948 wurde ich in Bronxville, New York als zweiter Sohn von Harold Schiffman und seiner Ehegattin Lillian geboren.

In Manhasset, New York, besuchte ich ab 1955 die amerikanischen Pflichtschulen - Elementary School, Junior High School und High School - und erhielt im Juni 1966 mein High School Diplom. Im September 1966 begann ich mein Studium der Biologie am Kenyon College in Gambier, Ohio. Bereits nach 3 1/2 Jahren konnte ich die vorgeschriebenen Studien für das vormedizinische Examen beenden und im Dezember 1969 das Abschlußexamen mit gutem Erfolg bestehen.

Im Wintersemester 1970/71 wurde ich als Student der Humanmedizin an der Universität München zugelassen. Aufgrund meines amerikanischen Studiums konnte ich nach 3 Semestern meine ärztliche Vorprüfung im Mai 1972 ablegen. Daraufhin setzte ich im Sommer 1972 mein klinisches Studium fort. Im Juni 1975 bestand ich die ärztliche Prüfung.

Am 19. Juli 1971 heiratete ich die deutsche MTA Hildegard Berndt in Versmold, Westfalen.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsquellen benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich bisher von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe.

